

SÉRIE A, N° 361

N° D'ORDRE

1027

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

A. BRIOT

Ancien Élève de l'École normale supérieure,
Agréé des Sciences naturelles.

1^{re} THÈSE. — *Études sur la présure et l'antiprésure.*

2^e THÈSE. — *Propositions données par la Faculté.*

Soutenues le 15 juin 1900, devant la Commission d'examen.

Président : M. BONNIER,

Examineurs : MM. { DASTRE,
 { HAUG.

SCEAUX

IMPRIMERIE E. CHARAIRE

98-100, RUE HOUDAN, 98-100

1900

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

ACADÉMIE DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

MM.

DOYEN | Gaston DARBOUTX, professeur. Géométrie supérieure.

PROFESSEUR }
HONORAIRE } Ch. HERMITE.

	DE LAGAZE-DUTHIERS.	Zoologie, Anatomie, Physiologie comparée.
	TROOST.	Chimie.
	LIPPMANN.	Physique.
	HAUTEFEUILLE	Minéralogie.
	BOUTY	Physique.
	APPELL.	Mécanique rationnelle.
	DUCLAUX.	Chimie biologique.
	BOUSSINESQ.	Calcul des probabilités et Physique mathématique.
	PICARD	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
	H. POINCARÉ.	Astronomie mathématique et Mécanique céleste.
PROFESSEURS	YVES DELAGE.	Zoologie, Anatomie, Physiologie comparée.
	Gaston BONNIER . . .	Botanique.
	DASTRE.	Physiologie.
	DITTE.	Chimie.
	MUNIER-CHALMAS . . .	Géologie.
	GIARD.	Zoologie, Évolution des êtres organisés.
	WOLF.	Astronomie physique.
	KOENIGS.	Mécanique physique et expérimentale.
	VÉLAIN.	Géographie physique.
	GOURSAT.	Calcul différentiel et Calcul intégral.
	CHATIN	Histologie.
	PELLAT.	Physique.
	HALLER	Chimie organique.
	PUISEUX.	Mécanique et Astronomie.
	TRIBAN.	Chimie analytique.
	RAFFY.	Analyse et Mécanique.
PROFESSEURS	LEDUC.	Physique.
ADJOINTS	MATRUCHOT.	Botanique.
	HAUG.	Géologie.
	HADAMARD	Calcul différentiel et Calcul intégral.

SECRÉTAIRE | FOUSSEREAU.

SÉRIE A, N° 361

N° D'ORDRE

1027

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

A. BRIOT

Ancien Élève de l'École normale supérieure,
Agrégré des Sciences naturelles,

1^{re} THÈSE. — *Études sur la présure et l'antiprésure.*

2^e THÈSE. — *Propositions données par la Faculté.*

Soutenues le 4 juin 1900, devant la Commission d'examen.

Président : M. BONNIER,

Examineurs : MM. { DASTRE,
HAUG.



SCEAUX

IMPRIMERIE E. CHARAIRE

98-100, RUE HOUDAN, 98-100

1900



Digitized by the Internet Archive
in 2026

ÉTUDES SUR LA PRÉSURE ET L'ANTIPRÉSURE

PAR A. BRIOT

Ancien Élève de l'École Normale Supérieure,
Agrégré des Sciences Naturelles.

INTRODUCTION

Les phénomènes diastatiques ont pris dans la physiologie actuelle la plus grande importance. Chez les animaux supérieurs, les actes successifs de la digestion sont accomplis principalement par les diastases : diastases de suc salivaire, du suc gastrique, du suc intestinal et du suc pancréatique.

Les phénomènes vitaux des êtres microbiens résultent aussi presque tous de l'action de diastases très diverses. La levure de bière elle-même accomplit sa fonction de ferment alcoolique au moyen d'une diastase, que Büchner a mise récemment en évidence et a appelée zymase.

La digestion intracellulaire des animaux semble également due à des diastases sécrétées par le protoplasme des cellules. Nous savons enfin que les microbes produisent dans les organismes qui leur servent d'hôtes, et dans les milieux de culture artificiels, des substances solubles, souvent toxiques, dont les propriétés se rapprochent beaucoup de celles des diastases élaborées par les cellules animales ou végétales.

Il est donc d'un intérêt très grand de pénétrer plus avant dans la connaissance de ces substances dont nous ignorons encore la constitution chimique et dont les effets physiologiques ne nous apparaissent que comme le résultat de forces mystérieuses.

On a récemment découvert que ces substances, toxines et diastases, peuvent, lorsqu'on les injecte aux animaux, provoquer la formation d'antisubstances dans l'organisme de ces

derniers. La thérapeutique moderne a tiré le plus grand parti de quelques-unes de ces antitoxines, de l'antitoxine diphtérique, de l'antitoxine tétanique, de l'antivenin.

Il était intéressant de rechercher si les diastases normales des animaux, injectées à d'autres animaux, étaient capables de provoquer, comme les toxines microbiennes ou les venins, la formation d'antidiastases. On savait déjà par les travaux de Kanthack, de Ehrlich, de Camus et Gley, qu'aux hémolysines correspondent des antihémolysines, qu'aux agglutinines correspondent des antiagglutinines, et Metchnikoff au début de cette année publiait le résultat de ses recherches sur la spermotoxine et l'antispermotoxine.

Mais ces diastases, dont on connaît les antidiastases, agissent sur des substances que l'on peut encore considérer comme vivantes : globules rouges, corps microbiens, spermatozoïdes ; aussi était-il utile de chercher l'antidiastase d'une diastase agissant sur une substance inerte et bien-définie.

J'ai étudié à ce point de vue la présure. Mon choix a porté sur cette diastase, à cause de l'intérêt qu'elle présente par ce fait qu'elle n'existe en grande quantité dans l'estomac des mammifères qu'à la première période de la vie, et qu'elle agit sur une substance inerte, la caséine du lait.

Avant d'aborder l'étude de la présure à ce point de vue, je rappellerai les faits essentiels connus et les théories données sur le mode d'action de la présure. J'y ajouterai les expériences que j'ai faites pour approfondir ce mode d'action.

Mon travail comprendra donc :

- 1° L'étude du mode d'action de la présure ;
- 2° La démonstration de l'existence d'une antiprésure dans le sérum normal des animaux ;
- 3° La surproduction de cette antiprésure chez les animaux auxquels on ajoute de la présure ;
- 4° L'étude du mode d'action de l'antiprésure sur la présure ;
- 5° L'étude des modifications apportées à l'action de la présure par la coexistence d'une autre diastase.

Ce travail a été fait dans les laboratoires de l'Institut Pasteur de Lille sous la direction de M. le professeur Calmette. M. Duclaux ne m'a pas ménagé ses conseils, et c'est

avec une affectueuse reconnaissance que je le prie de partager avec M. Calmette l'hommage de ce premier travail.

MODE D'ACTION DE LA PRÉSURE SUR LE LAIT

La présure après un certain temps de contact avec le lait le fait prendre en une masse compacte, gélatineuse, en un caillot. Ce caillot, après quelque temps, se rétracte laissant exsuder un sérum clair. Il est constitué surtout par le principal albuminoïde du lait, par la caséine. Cette caséine, en se coagulant, entraîne avec elle les globules gras du lait.

Hammarsten a indiqué un procédé de préparation de cette caséine. Il obtient une poudre blanche, peu soluble dans l'eau, mais qui se dissout dans une solution alcaline. Cette solution, neutralisée par de l'acide phosphorique, est une liqueur ayant l'aspect de lait écrémé, et se comportant comme le lait vis-à-vis de la présure.

Les deux principales hypothèses faites sur la coagulation du lait étaient basées sur les expériences suivantes dues à Arthus et à Hammarsten :

1° L'adjonction de 1 pour 1,000 d'oxalate de potasse au lait le rend incoagulable par la présure.

Mais la chaleur de l'ébullition y détermine un précipité floconneux; l'adjonction de chlorure de calcium, même en faible quantité, y provoque la formation instantanée d'un caillot compact et rétractile.

2° Les phénomènes sont les mêmes avec une solution de caséine, faite dans l'eau de chaux, puis neutralisée par un courant d'acide carbonique.

Dans ces conditions, disent les auteurs, la présure a modifié la caséine. Elle produit un dédoublement de cette caséine en deux albuminoïdes : l'un peu ou point soluble constitue le caillot, et Hammarsten l'appelle la *paracaséine*, Arthus le *caséogène*, l'autre reste en solution et est la *lactosérumprotéose* d'Arthus.

A partir de là, les deux auteurs divergeaient d'opinion.

Pour Hammarsten la paracaséine, peu soluble, précipitait, entraînant le phosphate de chaux du lait avec elle. Arthus était d'un autre avis. Il pensait que le caséogène se combinait avec les sels de chaux du lait pour donner un caséum calcique insoluble. Dans un lait décalcifié, sous l'action de la présure, la caséine subit son dédoublement en *caséogène* et *lactosérumprotéose*, et par adjonction d'un sel de calcium, de baryum, de strontium ou de magnésium, on obtient un caséum calcique, barytique, strontianique ou magnésien.

Telles étaient les deux hypothèses principales en présence. Mais M. Duclaux leur fit de sérieuses objections.

D'abord à la théorie du dédoublement de la caséine par la présure, il a répondu par une expérience :

Le lait normal est filtré au travers d'un diaphragme de porcelaine. Le même lait, préalablement coagulé par la présure, est filtré également, et on constate que les deux liquides de filtration ont sensiblement la même composition, la même teneur en albuminoïdes. Si, par la présure, la caséine s'était dédoublée en deux albuminoïdes, l'un insoluble, l'autre soluble, on aurait retrouvé ce dernier dans le liquide filtré provenant du lait coagulé, et par conséquent, on aurait eu teneur plus forte de ce liquide en albuminoïde.

Cette théorie du dédoublement a reçu une nouvelle atteinte décisive par les récents travaux de Hillmann sur le lait et de Hammarsten lui-même sur la fibrine.

Hillmann détermine, dans divers échantillons de lait, la teneur en caséine de ce lait, et la teneur en paracaséine du même lait modifié par la présure ; il détermine aussi la teneur en albumine du sérum de ce lait. Il trouve que le rapport de la paracaséine à la caséine varie de 72 0/0 à 97 0/0 et que parallèlement la teneur en albumine du sérum diminue quand la teneur en paracaséine augmente. Si donc la caséine subissait un dédoublement chimique par la présure, le rapport de la paracaséine à la caséine devrait être constant et non variable, comme Hillmann le constate, avec la dilution, avec la composition et même avec l'origine du lait.

Hammarsten a montré que dans la coagulation du sang, le rapport de la fibrine au fibrinogène n'était également pas constant, mais variait de 60 0/0 à 94 0/0. Ici donc non plus,

l'idée d'un dédoublement du fibrinogène en fibrine et fibrinoglobuline par la plasmase n'est pas acceptable.

L'hypothèse d'un dédoublement de la caséine par la présure est donc complètement abandonnée actuellement, même par leurs auteurs. puisque Hammarsten a écrit : « La présure agit sur la caséine soit par hydrolysation, soit par production d'un changement intramoléculaire ou de tout autre changement intime de nature inconnue. »

Quant à l'hypothèse qui consiste à faire du phénomène de coagulation à proprement parler un phénomène de combinaison chimique de la paracaséine avec les sels calciques du lait, il faudrait, pour l'établir, montrer la teneur constante du coagulum en chaux, ce qui jusqu'ici n'a pu être démontré.

*
* *

La question en est là. Il m'a semblé trop délicat de pénétrer plus avant dans la détermination des modifications de la caséine par la présure, étant donnée l'ignorance dans laquelle nous sommes au sujet de la constitution de la caseine et de la paracaséine.

Mais il m'a semblé possible de mieux approfondir les conditions dans lesquelles cette caséine modifiée se précipite pour former un coagulum.

L'opinion généralement admise jusqu'ici est que la présence des sels de chaux solubles dans le lait est nécessaire aux phénomènes de coagulation. Arthus et Pagès, opérant sur du lait oxalaté à 1 0/00, trouvent que ce lait ne coagule plus par la présure, mais qu'après un certain temps d'action de la présure, l'ébullition y produit un coagulum. Nous verrons plus loin que les conditions dans lesquelles se plaçaient ces deux savants n'étaient pas à l'abri de tout reproche, et que l'élimination de la chaux n'était pas complète.

Les expériences, que Hammarsten a faites avec la caséine artificielle, sont plus rigoureuses et plus concluantes. Elles répondent aux expériences de Peter. Ce dernier auteur avait affirmé que les solutions de paracaséine dans l'eau de chaux coagulaient par la présure. Mais la présure qu'il employait renfermait de la chaux. Aussi, Hammarsten n'observe-t-il plus

la coagulation de semblables solutions de paracaséine, quand il emploie une solution de présure préalablement décalcifiée par un oxalate alcalin, et dialysée ensuite pour enlever l'excès d'oxalate.

Il a également opéré sur des solutions de caséine et constaté qu'elles ne se coagulent pas par la présure.

L'adjonction de chlorure de sodium à ces solutions additionnées de présure y produit à 38°-40° un précipité floconneux qui se redissout par le refroidissement : mais on n'a pas là une véritable coagulation.

Il semble résulter de ces faits que la présence des sels de chaux soit absolument nécessaire pour la production d'un coagulum caractéristique. Le chlorure de sodium provoque une précipitation, non une coagulation avec le caractère de la prise en masse, suivie de rétraction.



Action des sels décalcifiants sur le lait. — J'ai repris l'étude des sels décalcifiants sur le lait en variant progressivement les doses, afin de suivre pas à pas les phénomènes. Des expériences de Lorcher ont établi que les sels décalcifiants, oxalates et fluorures alcalins, retardent la coagulation avant de l'empêcher complètement.

Mais avant d'entrer dans le détail de mes expériences, il me faut indiquer ce que l'on sait sur les sels de chaux du lait.

Par les analyses des cendres du lait, M. Duclaux est arrivé à établir que la totalité de la chaux de ces cendres devait s'y trouver à l'état de phosphate tribasique. 10 c. c. de lait renfermeraient en moyenne 32 milligrammes de phosphate de chaux. M. Duclaux établissait le fait que la filtration du lait sur porcelaine poreuse retient une certaine quantité de phosphate, variable avec le degré d'acidité du lait. Ce phosphate, retenu par le filtre, serait à l'état de suspension dans le lait. Le phosphate qui traverse le filtre est à l'état de solution.

J'ai voulu m'assurer si dans le lait il y a bien réellement du phosphate de chaux en suspension.

A cet effet, j'ai pris deux échantillons du même lait. L'un a été centrifugé dans une centrifugeuse à grande vitesse pendant

cinq heures. On a décanté avec précaution une partie du lait qui était immédiatement au-dessous de la couche consistante de crème, et une partie du lait qui se trouve au fond du tube centrifugé. S'il y avait du phosphate de chaux en suspension, il devait être resté au fond du tube. On a fait l'analyse totale des phosphates terreux des cendres de 30 c. c. de chacune des deux parties du lait, et de 30 c. c. du même lait non centrifugé. On a trouvé des chiffres concordants pour ces trois analyses, les deux premiers étant un peu plus forts que le troisième, ce qui s'explique par ce que l'on a alors des laits écrémés tandis que le 3^e échantillon n'était pas écrémé. Ainsi dans l'une de mes analyses, j'ai trouvé 3 gr. 7 de phosphates terreux par litre, pour l'échantillon prélevé à la surface du lait centrifugé ; 3^{gr}, 8 pour l'échantillon prélevé au fond du lait centrifugé, et 3^{gr}, 6 pour le lait non centrifugé. Les différences entre ces chiffres, sont de l'ordre de grandeur des différences de volume des laits dûes à l'écémage.

Donc, le phosphate de chaux du lait est à l'état de solution en partie, le reste étant, non pas à l'état de suspension, mais vraisemblablement à l'état colloïdal.

10 c. c. de lait renferment en moyenne 32 milligrammes de phosphate de chaux. Si on suppose que l'oxalate alcalin et le phosphate de chaux réagissent molécule à molécule, il faudra 48^{mg}, 7 d'oxalate de potasse pour précipiter toute la chaux du lait, c'est-à-dire environ 1 c. c. d'une solution d'oxalate à 5 %.

Voici, résumées en un tableau, les expériences que j'ai faites sur le lait oxalaté :

NATURE du MÉLANGE	QUANTITÉ de PRÉSURE MISE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ À 40°	OBSERVATIONS
10 c. c. lait.	1/500 c. c.	Coagulum en 13'.	
	2/500 —	Coagulum en 7'.	
	3/500 —	Coagulum en 5'.	
10 c. c. lait. 0 c. c. 2 oxalate de potassium 5 0/0.	1/500 c. c.	Rien ap. 2 h.	Coagulum à l'ébullition.
	2/500 —	Coagulum en 45'.	
	3/500 —	Coagulum en 23'.	
	1/100 —	Coagulum en 20'.	
10 c. c. lait. 0 c. c. 2 oxalate de potassium 5 0/0. 0 c. c. 5 chlorure de sodium 25 0/0.	1/500 c. c.	Coagulum en 1 heure.	
	2/500 —	Coagulum en 27'.	
	3/500 —	Coagulum en 20'.	
	4/500 —	Coagulum en 13'.	
10 c. c. lait. 0 c. c. 3 oxalate de potassium 5 0/0.	Quantités variables.	Rien.	Coagulum à l'ébullition ou par adjonction de tra- ces de chlorure de calcium.
10 c. c. lait. 0 c. c. 3 oxalate de potassium 5 0/0. 0 c. c. 5 chlorure de sodium 25 0/0.	1/500 c. c.	Rien.	Coagulum à l'ébullition.
	2/500 —	Coagulum en 1 h. 24'.	
	3/500 —	Coagulum en 40'.	
	4/500 —	Coagulum en 37'.	
	5/500 —	Coagulum en 24'.	
10 c. c. lait. 0 c. c. 5 oxalate de potassium 5 0/0.	Quantités variables.	Rien.	Coagulum à l'ébullition.
10 c. c. lait. 0 c. c. 5 oxalate de potassium 5 0/0. 0 c. c. 5 chlorure de sodium 25 0/0.	Quantités variables.	Rien.	Coagulum à l'ébullition.
10 c. c. lait. 1 c. c. oxalate de potassium 5 0/0.	Quantités variables.	Rien.	Rien à l'ébullition.
10 c. c. lait. 1 c. c. oxalate de potassium 5 0/0. 1 c. c. chlorure de sodium 25 0/0.	Quantités variables.	Rien.	A l'ébullition, petits gru- meaux assez peu abon- dants. Le sérum restant est très laiteux et fournit un abondant coagulum par adjonction de chlorure de calcium.

Ainsi donc la présure dans un lait oxalaté à plus de 1 0/00 ne donne plus de coagulation à la température de 40°. Mais l'adjonction de chlorure de sodium à ce lait y amène la coagulation. Le chlorure de sodium, *sel retardateur* de la coagulation du lait normal par la présure, est, dans ce cas du lait oxalaté, un *provocateur* de la coagulation.

Lorsque la dose d'oxalate ajoutée au lait devient plus forte, lorsqu'on arrive à la dose 2,5 0/00, l'adjonction de chlorure de sodium ne change rien au phénomène. A la température de 40°, on n'a pas de coagulation ; l'ébullition la provoque encore.

Si on augmente la dose d'oxalate, et qu'on atteigne la dose de 5 0/00, c'est-à-dire la dose qui, d'après notre hypothèse, serait nécessaire pour la précipitation complète de la chaux, on n'observe plus de coagulation à l'ébullition, après action de la présure. Ce lait, fortement oxalaté et additionné de chlorure de sodium, est mis en présure. Après un certain temps de contact avec cette dernière, on porte à l'ébullition ; on voit aussitôt un précipité grumeleux fin et peu abondant prendre naissance. Ce n'est plus ce précipité en gros grumeaux, laissant un sérum clair que l'ébullition donnait dans les cas précédents. — On a dans ce dernier cas des phénomènes assez comparables à ceux que Hammarsten a signalés avec les solutions artificielles de caséine.

*
* *

Action des citrates alcalins. — Il est une autre catégorie de sels intéressants, ce sont ceux que l'on emploie souvent pour empêcher la coagulation spontanée du sang : les citrates alcalins. Quoique ces sels ne donnent pas de précipité de citrate de chaux, celui-ci étant soluble à froid, on les considère parfois comme des décalcifiants et c'est par leur rôle décalcifiant, qu'on expliquait leur action empêchante de la coagulation du lait ou du sang.

Le citrate de soude ajouté au lait, même en dose faible, ralentit beaucoup la coagulation par la présure. Des doses plus fortes donnent des coagulums incomplets, et avec davantage de citrate, on n'observe plus de coagulation du tout.

N ^{os}	NATURE DU MÉLANGE	QUANTITÉ DE PRÉSURE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ
A	10 c. c. lait.	1/1000 c. c. 1/500 — 1/250 —	Coagulum en 24'. — 46'. — 8'. } Poids moyen du coagulum, 0 ^{sr} , 493.
B	10 c. c. lait. 0 c. c. 1 citrate de soude à 4 0/0.	1/1000 c. c. 1/500 — 1/250 —	Coagulum en 35'. — 22'. — 12'.
C	10 c. c. lait. 0 c. c. 3 citrate de soude à 4 0/0.	1/250 c. c. 3/500 — 2/100 —	Coagulum en 34'. — 26'. — 13'. } Poids moyen du coagulum, 0 ^{sr} , 415.
D	10 c. c. lait. 0 c. c. 5 citrate de soude 4 0/0.	Quantités variables.	Rien à 40°. Coagulum à l'ébullition.
E	10 c. c. lait. 2 c. c. citrate de soude 8 0/0.	Quantités variables.	Rien à 40°. Coagulum incomplet à l'ébullition.

Le chlorure de sodium ajouté au lait citraté a pour effet d'en accélérer la coagulation, si elle devait se faire, de la compléter si elle devait être incomplète, et même de la provoquer dans des cas où elle ne devait pas se produire.

Nos	COMPOSITION DE MILIEU	QUANTITÉ DE PRÉSURE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ A 40°	OBSERVATIONS
1	10 c. c. lait.	1/500 c. c. 2/500 — 3/500 — 4/500 —	Coagulum en 21'. — 11'. — 8'. — 5'.	
2	10 c. c. lait. 0 c. c. 5 chlorure desodium 25 0/0.	1/500 c. c. 2/500 — 3/500 — 4/500 —	Coagulum en 24'. — 13'. — 10'. — 7'.	
3	10 c. c. lait. 1 c. c. chlorure de sodium 25 0/0.	1/500 c. c. 2/500 — 3/500 — 4/500 —	Coagulum en 30'. — 22'. — 15'. — 12'.	
4	10 c. c. lait. 0 c. c. 3 citrate de sodium 4 0/0.	1/500 c. c. 2/500 — 3/500 — 4/500 —	Coagulum en 69'. — 30'. — 29'. — 24'.	Coagulum incomplet. — — — — — —
5	10 c. c. lait. 0 c. c. 3 citrate 4 0/0. 0 c. c. 5 chlorure desodium 25 0/0.	1/500 c. c. 2/500 — 3/500 — 4/500 —	Coagulum en 44'. — 20'. — 13'. — 11'.	Coagulum complet. — — — — — —
6	10 c. c. lait. 0 c. c. 3 citrate 4 0/0. 1 c. c. chlorure de sodium 25 0/0.	1/500 c. c. 2/500 — 3/500 — 4/500 —	Coagulum en 50'. — 35'. — 22'. — 16'.	Coagulum complet. — — — — — —
7	10 c. c. lait. 0 c. c. 5 citrate 4 0/0.	1/50 c. c.	Coagulum en 7'.	Coagulum incomplet.
8	10 c. c. lait. 0 c. c. 5 citrate 4 0/0. 0 c. c. 5 chlorure desodium 25 0/0.	1/50 c. c.	Coagulum en 4'.	Coagulum complet.
9	10 c. c. lait. 0 c. c. 5 citrate 8 0/0.	Variables.	Rien.	Coagulum à l'ébullition.
10	10 c. c. lait. 0 c. c. 5 citrate 8 0/0. 0 c. c. 5 chlorure desodium 25 0/0.	1/100 c. c. 1/50 —	Coagulum en 19'. — 9'.	Coagulum complet. — —
11	10 c. c. lait. 1 c. c. citrate 8 0/0.	Variables.	Rien.	Coagulum à l'ébullition.
12	10 c. c. lait. 1 c. c. citrate 8 0/0. 1 c. c. chlorure de sodium 25 0/0.	Variables.	Rien qu'un très léger caillot.	Coagulum complété à l'ébullition.

Les citrates alcalins jouent donc un rôle empêchant de la coagulation. Cette action empêchante est annihilée par le chlorure de sodium. Mais ce dernier sel n'en exerce pas moins son action retardatrice sur la coagulation du lait ainsi qu'il résulte des séries 5 et 6 du tableau d'expériences précédent, où l'on voit la coagulation se faire moins rapidement lorsque la dose de chlorure de sodium est plus forte.

Cette action favorisante du chlorure de sodium est donc une action simplement favorisante de la précipitation. Car si, à du lait citraté à une dose telle que la présence ne doive pas le coaguler à la température de 40°, si, à ce lait laissé en contact avec la diastase, on ajoute du chlorure de sodium, on observe que la coagulation se fait très rapidement, en 2 ou 3 minutes, quelquefois même plus vite.

Avec le chlorure de calcium, en ajoutant ce sel par doses progressives au lait citraté et emprésuré, on a formation progressive du caillot, comme si on supprimait progressivement le citrate alcalin. Ainsi, à 10 c. c. de lait citraté à 4 0/00 sur lequel la présure a agi, on ajoute 0^{cc}.1 de chlorure de calcium à 5 0/0, on obtient un très léger coagulum; l'adjonction nouvelle de 0^{cc}.1 de la même solution augmente le coagulum; 0^{cc}.1 en plus de la solution complète presque le coagulum, et l'addition de 0^{cc}.1 le complète tout à fait.

Sur du lait citraté à 8 0/00 on fait agir la présure et on ajoute progressivement par doses de 0^{cc}.1 la solution de chlorure de calcium à 5 0/0. Les deux premières doses ne produisent rien, puis on a un caillot dont l'importance augmente progressivement et qui ne devient complet que lorsqu'on a ajouté 0^{cc}.7 de la solution de chlorure de calcium.

*
* *

On vient de lire les phénomènes que j'ai observés avec les oxalates et les citrates. Il reste maintenant à chercher à les expliquer.

L'action de l'oxalate alcalin s'explique par la précipitation de la chaux qu'il produit. Lorsque la dose d'oxalate a atteint celle qui, d'après mon hypothèse de réaction molécule à molécule, est nécessaire pour précipiter toute la chaux, on n'observe

plus de coagulation ni à 40° ni à l'ébullition. Lorsque la dose est un peu plus faible, on n'a pas de coagulation à 40°, mais coagulation à l'ébullition. Lorsque la dose est plus faible encore, la coagulation est simplement ralentie.

Pour s'expliquer l'action des citrates alcalins, on ne peut avoir recours à l'idée de la formation de citrate de chaux. Je rappellerai les expériences de Vaudin sur les citrates et phosphates.

Dans le lait de vache, Vaudin trouve de 1^{gr},2 à 1^{gr},5 d'acide citrique par litre. Cet acide est à l'état de citrate alcalin, et c'est lui qui, grâce à l'action adjuvante du lactose, maintient le phosphate de chaux en solution dans le lait. Vaudin a préparé des solutions artificielles de phosphate de chaux dans une solution de citrate alcalin, de phosphate disodique et de lactose. Ces solutions se comportent comme le lait vis-à-vis du filtre Chamberland. Elles ne laissent pas passer tout leur phosphate de chaux au travers de la bougie. Une partie en est retenue, sans que pour cela le phosphate soit en suspension. Il est vraisemblablement maintenu dans la liqueur, partie en véritable solution, partie à l'état colloïdal, et c'est ce dernier qui resterait sur le filtre

Ces solutions, lorsqu'elles sont assez concentrées, précipitent du phosphate de chaux à l'ébullition. L'adjonction de sels, tels que le chlorure de sodium, y produit un précipité après un temps plus ou moins long. Ces solutions se conduisent donc comme les solutions de sulfate de quinine, étudiées par M. Duclaux, et sont susceptibles de précipiter par changement salin du milieu.

Le lait est une solution de phosphate de chaux, comparable à certains points de vue à celles de Vaudin. Ce phosphate de chaux, par lui-même, est susceptible de se précipiter, de se coaguler. L'albuminoïde du lait, la caséine, est, elle aussi, susceptible de coagulation. Les deux phénomènes de coagulation ne sont pas indépendants l'un de l'autre, ils s'influencent réciproquement.

La présure, en modifiant la caséine, change les conditions de solubilité dans le lait de la caséine et du phosphate, et l'on a un coagulum mixte de caséine et de phosphate de chaux. Il est difficile de dire quelle est, des deux substances, celle qui entraîne l'autre.

Il est remarquable que toute cause qui modifie les conditions de précipitation du phosphate modifie profondément les conditions de coagulation du lait. Toute cause qui supprime le phosphate de chaux du lait avant la coagulation empêche cette coagulation d'avoir lieu. Ainsi agissent les sels décalcifiants, oxalates et fluorures alcalins. Toute cause qui augmente la stabilité de la solution du phosphate de chaux retarde ou empêche la coagulation. Ainsi agissent les citrates alcalins. C'est ainsi aussi que le chlorure de sodium, qui provoque la précipitation du phosphate de chaux des solutions de Vaudin, provoque également la coagulation du lait moyennement oxalaté ou citraté.

La coagulation du lait par la présure serait donc un phénomène double. D'abord une modification de la caséine, puis une coagulation à proprement parler, c'est-à-dire un phénomène physique. Ces deux stades du phénomène sont indépendants, le premier pouvant se faire sans être suivi du second. Cette indépendance s'est manifestée par l'étude du lait oxalaté ou citraté. Elle se manifeste mieux encore si au lieu d'ajouter le sel au lait avant la diastase, on ajoute le sel après un temps plus ou moins long de contact de la présure avec le lait. On constate que les phénomènes sont absolument les mêmes dans les deux cas.

Ainsi, à une série de tubes, renfermant 10 c. c. de lait, on ajoute 0 c. c. 001 de présure Hansen, la coagulation se fait en 24 minutes dans les tubes où l'on n'ajoute rien d'autre. On ajoute, une, deux, trois, etc., ou vingt-trois minutes après la présure, une dose d'oxalate ou de citrate alcalin qui, mise avant la présure, empêchait la coagulation, et on constate que jusqu'à la 23^e minute l'addition du sel empêche la coagulation, et, à l'ébullition, on ne constate pas de différence entre le tube qui a reçu le sel avant la présure et celui qui a reçu le sel 23 minutes après la diastase.

Du reste, la formation d'un précipité de phosphate de chaux gélatineux dans le lait peut entraîner la caséine même lorsqu'elle n'a pas été modifiée par la présure.

Si à du lait on ajoute du phosphate bisodique, et à ce lait phosphaté du chlorure de calcium, on a formation d'un précipité de phosphate gélatineux de chaux qui entraîne la caséine en un caillot formé de très gros grumeaux, presque compact, et

qui laisse exsuder un sérum clair. Séparément le phosphate de soude et le chlorure de calcium sont sans action à la température de 40° à laquelle on opère.

NATURE DU MÉLANGE	QUANTITÉ D'UNE SOLUTION de CHLORURE DE CALCIUM à 50 o/o	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ
10 c. c. lait	0 c. c. 4	Caillot en 18 minutes.
4 c. c. phosphate	0 — 3	— 28 —
bisodique 5 0/0	0 — 1	— 43 —

Si on se rappelle qu'il y a dans le lait du phosphate de soude, peut-être aura-t-on là une explication de l'action du chlorure de calcium sur le lait. En effet, d'après les analyses de M. Duclaux, 10 c. c. de lait renferment environ 10^{mmg},4 de phosphate tribasique de soude. Or, pour la transformation de ce phosphate soluble au phosphate calcique, insoluble il faut 21^{mmg} de chlorure de calcium ($\text{CaCl}_2 + 6 \text{ aq.}$), autrement dit un peu moins de 0 c. c. 5 d'une solution à 5 0/0. On augmente la quantité de phosphate de chaux du lait; on augmente par suite sa coagulabilité. La quantité de phosphate de chaux peut même devenir suffisante pour précipiter à l'ébullition, et alors entraîner la caséine et donner une coagulation.

*
* *

Expériences sur le lait dialysé, sur le lait dilué et sur le lait de jument. — C'est également aux propriétés de la solution de phosphate de chaux qu'il faut se reporter pour expliquer les phénomènes que j'ai observés avec le lait dialysé, et avec le lait dilué.

De mes expériences, il résulte qu'une dialyse modérée a pour effet de rendre le lait plus facilement coagulable par la présure. Le temps de coagulation devient environ moitié moindre de celui d'un témoin non dialysé et amené par addition d'eau distillée au même volume que le lait dialysé.

EXPÉRIENCE A. — 100 c. c. de lait sont mis à dialyser 6 heures dans un tube de parchemin plongé dans une grande masse d'eau distillée. Ces 100 c. c. deviennent 119 c. c. par suite de passage d'eau au travers de la membrane. 10 c. c. de ce lait coagulent par 0 c. c. 001 de présure en 9 minutes 1/2.

B. 100 c. c. du même lait sont mis dans un tube de verre plongé dans l'eau où l'échantillon précédent dialyse. On ajoute 19 c. c. d'eau distillée pour l'amener au même volume.

10 c. c. de ce lait dilué coagulent par 0 c. c. 001 de présure en 20 minutes.

L'eau dans laquelle était plongé le lait à dialyser a été évaporée au bain-marie. Elle a donné un résidu sec assez abondant, renfermant une grande quantité de lactose.

Le citrate du lait a également dialysé en partie et cette perte de citrate a beaucoup augmenté la coagulabilité du lait, tout en diminuant la solubilité du phosphate de chaux.

La dilution du lait a pour effet de retarder la coagulation par la présure, d'abord, puis, si la dilution est suffisante la coagulation ne se produit plus du tout.

Ainsi à une partie de lait on ajoute deux parties d'eau. On obtient un mélange A. sur lequel on fait agir la présure. A la température de 40°, on n'observe rien, même après cinq heures. Mais à l'ébullition, on a un caillot en grumeaux flottants.

Si, à ce mélange A, on ajoute du chlorure de sodium les phénomènes changent.

A 60 c. c. du liquide A, on ajoute 1 c. c. d'une solution de chlorure de sodium à 25 0/0, on obtient un nouveau mélange B qui se comporte de la manière suivante vis-à-vis de la présure :

10 c. c. de B	coagulent par	2/500 c. c. de présure	en 33 minutes.
10 c. c. de B	—	3/500 —	— 25 —
10 c. c. de B	—	4/500 —	— 16 —

Les solutions artificielles de phosphate de chaux préparées par Vaudin précipitaient plus facilement lorsqu'elles étaient concentrées que lorsqu'elles étaient diluées. La dilution du lait a un double effet : elle dilue la solution de phosphate de chaux qu'est le lait, et la rend plus difficilement précipitable ; elle dilue également la caséine. Le chlorure de sodium joue encore, dans le cas du lait dilué, un rôle favorisant de la coagulation tout comme dans le cas du lait oxalaté ou citraté.

Le lait de vache, ainsi dilué, ne coagule plus que très mal par l'action de la présure. Parmi les mammifères, il en est quelques-uns dont le lait ne coagule pas ou presque pas par la présure. La jument, l'ânesse, la femme sont de ce nombre. Mais si on compare la composition de ces laits à celle du lait de vache, on voit qu'ils sont moins riches en albuminoïdes (environ de deux à trois fois moins), moins riches en cendres, plus riches en lactose.

Lorsqu'on étend le lait de vache de deux fois son volume d'eau, on l'amène à une teneur en caséine comparable à celle du lait de jument. Mais on diminue le pourcentage d'acide citrique. Un litre de lait de jument d'après Vaudin contient environ 0^{gr},8 d'acide citrique. Le lait de vache dilué de 2 fois son volume d'eau n'en renferme plus que 0^{gr},4 environ. Donc il faut ajouter du citrate de soude au lait de vache dilué pour l'amener à la même teneur que le lait de jument, et on augmente ainsi encore beaucoup son incoagulabilité. On arrive à un liquide qui se comporte vis-à-vis de la présure d'une manière comparable à celle du lait de jument.

Le lait de jument emprésuré ne se coagule pas à la température de 40°. L'ébullition y produit un coagulum grumeleux, après un certain temps de contact de la présure, tout comme dans le lait de vache dilué.

Le chlorure de calcium, ajouté au lait de jument, en provoque la coagulation par la présure. Mais comme pour le lait de vache, il y a une dose optima au delà de laquelle la coagulation est retardée.

NATURE DU MÉLANGE	PRÉSURE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ
	2/100 c. c.	Coagulum en 70 minutes.
10 c. c. lait jument.	3/100 —	— 45 —
0 c. c. 5 CaCl ² 20 0/0	4/100 —	— 35 —
	5/100 —	— 23 —
	2/100 c. c.	Rien au bout de 3 heures.
10 c. c. lait jument.	3/100 —	Coagulum en 2 h. 23 min.
1 c. c. CaCl ² 20 0/0.	4/100 —	— 1 h. 50 —
	5/100 —	— 1 h. 38 —

Quelques auteurs avaient voulu conclure à l'existence d'une caséine spéciale au lait de chaque espèce animale. Ils se basaient sur la conduite différente de ces laits vis-à-vis de la présure. On vient de voir une même caséine, celle du lait de vache se conduire de manières très différentes vis-à-vis de la présure

suivant la dilution, suivant la teneur en sels du milieu. Pour suivre les auteurs, faudrait-il donc admettre que l'adjonction d'eau ou de sel au lait change la nature de son albuminoïde? Évidemment non. Ce qui change d'un lait à l'autre, ce sont les conditions salines accompagnant la caséine. Comme le phénomène de la coagulation dépend exclusivement de ces conditions, il ne faut pas s'étonner de le voir si différent d'un lait à l'autre.



En résumé de ces recherches sur la présure, je conclurai :

1^o *Au dedoublement du phénomène de la coagulation du lait par la présure en deux actions, l'une de nature inconnue portant sur la caséine, l'autre qui constitue à proprement parler la coagulation, et qui est de nature purement physique ;*

2^o *A la corrélation très étroite de la deuxième action, de la coagulation proprement dite, avec la précipitation du phosphate de chaux du lait. Le coagulum n'est typique que lorsqu'il y a encore de la chaux dans le lait. Ce serait donc le précipité de phosphate de chaux qui donnerait au coagulum de caséine son caractère de compacité, de rétractilité. Lorsqu'il n'y a pas de phosphate de chaux précipitable dans la liqueur, la précipitation de la caséine devient plus difficile, mais elle est encore possible sous l'influence de certains sels, tels que le chlorure de sodium, chlorure de potassium. Elle se fait alors sous la forme d'un précipité en fins grumeaux non cohérents.*

II

DE L'EXISTENCE D'UNE ANTIPRÉSURE DANS LE SÉRUM NORMAL DE CHEVAL.

En 1887, Rôden signalait le fait que le sérum de cheval ajouté au lait avait pour effet d'en retarder la coagulation par la présure et même de l'empêcher complètement, si la dose était suffisante. Il établissait que cette propriété du sérum se conservait par la

dialyse, se perdait par la chaleur. Mais il ne pouvait donner l'explication du phénomène. Il ne pouvait le rattacher à aucun autre fait connu. On ne s'en étonnera pas. A cette époque déjà lointaine, les toxines commençaient à peine à attirer l'attention; les antitoxines n'étaient pas encore soupçonnées, encore moins les antidiastases. Aussi les faits signalés par Röden passèrent-ils inaperçus dans la science.

En effet, dix ans plus tard, Camus et Gley redécouvraient de leur côté l'action empêchante exercée par le sérum de chien sur la coagulation. Mais ils attribuaient cette action à l'alcalinité du sérum. Pourtant, en ces dix ans, les connaissances sur les toxines, antitoxines, diastases et antidiastases s'étaient étendues et précisées.

En 1898, Ehrlich annonçait très sommairement, dans l'un de ses travaux, que son élève Morgenroth avait obtenu un antilab.

De mon côté, je faisais des recherches dans cette voie, et en 1899 je publiais le sommaire d'expériences faites et les conclusions auxquelles j'arrivais. Je conclus à *l'existence dans le sang de nombreux animaux d'une substance de nature diastasique, agissant sur la présure, comme les antitoxines sur les toxines. C'est cette substance que j'ai appelée antiprésure*. J'ai montré également que par injections répétées de présure à un animal on arrivait à obtenir une surproduction d'antiprésure dans le sang de cet animal.

Ce sont les détails des expériences qui m'ont conduit à ces conclusions que je vais exposer dans ce chapitre et dans le suivant.

Je dirai d'abord dans quelles conditions mes expériences ont été faites. Je me servais de présure liquide Hansen dont la force diastasique était telle qu'elle coagulait environ dix mille fois son volume de lait en 20 minutes à 35—40°. J'observais la coagulation à des températures très voisines de 40°, température optima pour l'action de la présure, de sorte que les légères oscillations de température autour de cet optima étaient sans importance appréciable sur les temps de coagulation.

Les dilutions de présure étaient faites dans l'eau distillée à la température ordinaire, au moment même de s'en servir. Aussi, la présure n'avait-elle pas le temps d'être affaiblie par un contact si peu prolongé avec l'eau.

Avec le sérum de cheval on observe les faits suivants. Dans une

série de tubes à essai, on met 10 c. c. de lait, 1 c. c. de sérum et des doses progressivement croissantes de présure. J'exprime ces doses en 1/100 de c. c. de la solution mère. (Cette solution mère était diluée soit au 1/10, soit au 1/20, soit au 1/50 immédiatement avant l'emploi.) On observe les durées de coagulation de chaque tube.

NATURE DU MÉLANGE	QUANTITÉ DE PRÉSURE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ
10 c. c. lait. 1 c. c. sérum cheval.	4/100 c. c.	Pas de coagulation.
	5/100 —	— —
	5,5/100 —	Coagulation en 23 minutes.
	6/100 —	— 9 —
	6,2/100 —	— 7 —
	7/100 —	— 4 —
10 c. c. lait.	0,4/100 c. c.	Coagulation en 18 minutes.

Avec le sérum d'un autre cheval, les résultats numériques sont différents, mais le phénomène dans son ensemble est le même.

NATURE DU MÉLANGE	QUANTITÉ DE PRÉSURE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ
10 c. c. lait. 0 c. c. 5 sérum.	2/100 c. c.	Coagulation en 5 minutes.
	1,75/100 —	— 16 —
	1,5/100 —	Pas de coagulation.
	1 100 —	— —
10 c. c. lait.	0,2/100 c. c.	Coagulation en 15 minutes.

De ces tableaux d'expériences, il ressort un fait intéressant. Dans une série de tubes renfermant la même quantité de lait et de sérum, on observe au point de vue de la coagulation une coupure brusque. Dans le premier tableau, une dose de 0 c. c. 05

de présure ne coagule pas le contenu du tube, tandis que la dose de 0 c. c. 055 le coagule en 23 minutes.

Dans le 2^e tableau on observe la même coupure entre les doses 0,0175 et 0,015.

Chaque fois que l'on opère dans les mêmes conditions, c'est-à-dire avec le même lait, le sérum de la même saignée, et la même présure, les phénomènes sont semblables, et la coupure s'observe toujours entre les mêmes doses de présure. Il y a une dose de présure minima nécessaire pour produire la coagulation.

Cette dose minima est variable, ainsi qu'on le voit par la comparaison des deux séries d'expériences données plus haut. J'ai cherché à étudier l'influence des différents facteurs de l'expérience sur cette variation : l'influence du lait, celle du sérum.

D'abord, la dose minima ne dépend pas de la quantité de lait. On s'en assure en faisant l'expérience avec des séries de tubes renfermant chacun la même quantité de sérum, mais des quantités croissantes de lait.

NATURE DU MÉLANGE	QUANTITÉ DE PRÉSURE	DILUTION de LA PRÉSURE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ
5 c. c. lait. 0 c. c. 5 sérum cheval.	1,5/100 c. c. 2/100 — 2,5/100 —	dilution au 1/20.	Pas de coagulation. Coagulation en 5 minutes. — — 4 —
10 c. c. lait. 0 c. c. 5 sérum cheval.	1,5/100 c. c. 2/100 — 2,5/100 —	1/20	Pas de coagulation. Coagulation en 7 minutes. — — 6 —
20 c. c. lait. 0 c. c. 5 sérum cheval.	1,5/100 c. c. 2/100 — 2,5/100 —	1/20	Pas de coagulation. Coagulation en 1 h. 30. — — 6 minutes.
30 c. c. lait. 0 c. c. 5 sérum cheval.	1,5/100 c. c. 2/100 — 2,5/100 —	1/20	Pas de coagulation. Coagulation en 2 heures. — — 7 minutes.

La dose limite est donc comprise entre 0 c. c. 015 et 0 c. c. 02 que l'on opère sur 5, 10, 20 ou 30 c. c. de lait.

Si, au contraire, on fait varier la quantité de sérum de chaque tube, la dose minima nécessaire à la coagulation varie proportionnellement à la quantité de sérum.

QUANTITÉ DE SÉRUM par 10 c.c. lait	QUANTITÉ DE PRÉSURE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ	DOSE MINIMA à DÉPASSER
1 c. c.	5,5/100 ou 1/18 c. c.	Pas de coagulation.	1/16 ou 6/100.
	6/100 ou 1/17 —	— —	
	6,6/100 ou 1/15 —	Coagulation en 8 m.	
	7,1/100 ou 1/14 —	— 4 m.	
0 c. c. 5.	2,8/100 ou 1/36 c. c.	Pas de coagulation.	1/32 ou 3/100.
	3/100 ou 1/34 —	— —	
	3,3/100 ou 1/30 —	Coagulation en 13 m.	
	3,6/100 ou 1/28 —	— 6 m.	
0 c. c. 2.	4,1/100 ou 1/90 c. c.	Pas de coagulation.	1/80 ou 1,3/100.
	1,25/100 ou 1/80 —	— —	
	1,33/100 ou 1/75 —	Coagulation en 35 m.	
	1,43/100 ou 1/70 —	— 46 m.	
0 c. c. 1.	0,55/100 ou 1/180 c. c.	Pas de coagulation.	Entre 1/170 et 1/160 ou 0,6/100.
	0,6/100 ou 1/170 —	— —	
	0,63/100 ou 1/160 —	Coagulation en 67 m.	
	0,66/100 ou 1/150 —	— 51 m.	
	0,74/100 ou 1/140 —	— 37 m.	

De ces expériences, il résulte donc que la présence de sérum de cheval dans le lait a pour effet d'en modifier complètement les conditions de coagulation par la présure.

Dans les conditions normales, les temps de coagulation de mêmes quantités de lait sont inversement proportionnels aux quantités de présure ajoutées au lait.

En présence de sérum, il n'en est plus ainsi. Pour une quantité

donnée de sérum ajoutée aux échantillons de lait, la coagulation n'a lieu que si la dose de présure dépasse une certaine limite; et cette coagulation se fait dans un temps d'autant plus court que la dose de présure dépasse davantage cette dose limite. Il y a même, ainsi qu'on peut le calculer pour le tableau précédent, pour chaque série de tubes où les conditions sont les mêmes, assez approximativement proportionnalité inverse entre les temps de coagulation et les différences entre la dose totale de présure et la dose limite.

On a vu également que cette dose limite était indépendante de la quantité de lait, mais était proportionnelle à la quantité de sérum.

Le sérum agit donc comme s'il annihilait une quantité de présure proportionnelle à son volume.

La quantité de présure annihilée par un centimètre cube de sérum peut être prise comme mesure de la force antiprésurante de ce sérum.

Un problème se pose ici : celui de savoir à quelle substance du sérum rapporter cette propriété. Rôden n'avait pas résolu la question, ainsi que je l'ai dit plus haut. Camus et Gley attribuent cette action empêchante du sérum à son alcalinité; mais ni l'alcalinité, ni les sels du sérum ne sont en jeu, ainsi que des expériences simples permettent de s'en assurer.

EXPÉRIENCE I. — A 10 c. c. de lait on ajoute 1 c. c. d'eau physiologique à 7 0/00 alcalinisée au même titre que le sérum. On constate que la coagulation du mélange par la présure se fait dans les mêmes temps que celle d'un mélange de 10 c. c. de lait et 1 c. c. d'eau distillée.

EXPÉRIENCE II. — On peut, du reste, éliminer du sérum à peu près tous les sels minéraux par dialyse.

On met 10 c. c. de sérum dans un sac de collodion et on plonge ce sac dans une grande masse d'eau distillée. Après 12 à 15 heures, on peut considérer la dialyse comme complète. Le volume du contenant du sac a augmenté par la dialyse, et dans une de nos expériences il est devenu 12 c. c.

A 10 c. c. du même sérum non dialysé on ajoute 2 c. c. d'eau distillée. On fait la mesure des pouvoirs antiprésurants des deux mélanges. On les trouve semblables.

Donc, le pouvoir antiprésurant ne tient pas aux sels dialysables du sérum, mais à une substance non dialysable.

Cette substance non dialysable présente tous les caractères des substances diastasiques ;

1^o Elle est précipitable par l'alcool.

L'alcool ajouté au sérum y produit un abondant précipité. Le liquide est filtré et dialysé pour le débarrasser de l'alcool qui coagulerait le lait. Essayé sur le lait, il ne manifeste aucune propriété antiprésurante. Le précipité alcoolique est remis en solution dans l'eau. Il n'exerce même plus aucune action sur la présure. La substance active du sérum a été non seulement précipitée par l'alcool, mais détruite.

2° *Elle est précipitable par le sulfate d'ammonium.* On traite 100 c. c. de sérum par le sulfate d'ammonium en poudre et en excès. Il se fait un précipité abondant, on le filtre. Le liquide filtré est dialysé pour le débarrasser du sulfate d'ammonium. Il n'a plus aucune action sur la présure.

Le précipité recueilli sur le filtre est lavé avec une solution saturée de sulfate d'ammonium. On le redissout dans 100 c. c. d'eau distillée. On dialyse cette solution pour éliminer le sulfate d'ammonium. On amène le volume du liquide à 200 c. c. par de l'eau distillée; et on mesure son pouvoir antiprésurant comparativement à celui du sérum additionné de son volume d'eau distillée. Les deux liquides ont sensiblement même pouvoir antiprésurant.

3° *Elle est détruite par la chaleur.*

Cette destruction n'est pas instantanée; elle se fait progressivement, d'autant plus vite que la température est plus élevée. Le chauffage à 58° n'a aucun effet sur le sérum. Mais à 60° la chaleur commence à devenir nuisible. Après trois heures à 62° le sérum a perdu tout pouvoir antiprésurant.

Dans chaque tube, on met 10 c. c. de lait, 1 c. c. de sérum chauffé plus ou moins longtemps et des doses variables de présure.

TEMPS DE CHAUFFAGE DU SÉRUM A 62°	QUANTITÉ DE PRÉSURE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ
Non chauffé.	1/25 c. c.	Pas de coagulation.
	6/125 —	Coagulation en 14 minutes.
Un quart d'heure.	4/125 c. c.	Pas de coagulation.
	5/125 —	Coagulation en 4 minutes.
Une demi-heure.	2/125 c. c.	Pas de coagulation.
	3/125 —	Coagulation en 4 minutes.
Une heure.	1/125 c. c.	Pas de coagulation.
	2/125 —	Coagulation en 19 minutes.
Deux heures.	1/250 c. c.	Pas de coagulation.
	1/125 —	Coagulation en 4 minutes.
Trois heures.	1/250 c. c.	Coagulation en 5 minutes.

Le sérum chauffé pendant trois heures à 62° n'a plus aucune action antiprésurante, ainsi qu'il résulte des expériences suivantes :

Quantité de lait.	Quantité de sérum chauffé 3 heures à 62°.	Quantité de présure.	Durée de la coagulation.
10 c. c.	1 c. c.	1/250 c. c.	3 min. 1/2.
10 —	2 —	1/250 —	7 minutes.
10 —	3 —	1/250 —	14 —

Quantité de lait.	Quantité d'eau physiologique.	Quantité de présure.	Durée de la coagulation.
10 c. c.	1 c. c.	1/250 c. c.	4 minutes.
10 —	2 —	1/250 —	8 —
10 —	3 —	1/250 —	14 —

Il s'ensuit donc que le pouvoir antiprésurant du sérum de cheval tient à une substance non dialysable, précipitable par l'alcool, par le sulfate d'ammonium, destructible par la chaleur. Cette substance a tous les caractères d'une substance diastasique. Elle agit sur la présure comme les antitoxines agissent sur les toxines. C'est une antidiastase : l'antiprésure.

L'antiprésure agit sur la présure en empêchant son action sur le lait. Elle empêche cette action, non pas à la façon des sels décalcifiants. Ce qu'elle empêche, c'est la modification de la caséine par la présure, c'est la transformation de la caséine en paracaséine.

III

L'ANTIPRÉSURE DANS LA SÉRIE ANIMALE. — PRODUCTION D'ANTIPRÉSURE.

Mes recherches sur l'antiprésure n'ont pas porté seulement sur le sérum de cheval. Je les ai étendues à d'autres sérums. Par la même méthode que pour le sérum de cheval, j'en ai déterminé les pouvoirs antiprésurants. J'évalue ces pouvoirs par la quantité de présure de force 10,000, dont 1 c. c. de sérum annihile les effets.

Espèce animale.	Quantité de présure neutralisée par une de sérum.
Porc.....	De 1/13 à 1/20 c. c.
Cheval.....	De 1/19 à 1/25 —
Veau.....	De 1/300 à 1/500 c. c.
Jeune lapin de 14 jours.....	1/300 c. c.
Poule.....	1/500 —
Mouton.....	1/700 —
Bœuf et vache.....	De 1/700 à 1/500 c. c.
Lapin adulte.....	1/1200 c. c.
Chèvre.....	1/2000 —

L'albumine de l'œuf de poule a également une action antiprésurante que j'ai évaluée à 1/400 environ.

Tous les animaux énumérés sont des producteurs de présure. Il est rationnel de penser que c'est par la résorption de la présure dans l'organisme que l'antiprésure se produit.

Il est intéressant également de voir que le jeune lapin a un sérum plus riche en antiprésure que le lapin adulte, que le sérum de veau est plus fortement antiprésurant que le sérum de bœuf ou de vache.

Ce phénomène pourrait s'expliquer tout naturellement en remarquant que l'estomac du jeune animal sécrète beaucoup plus de présure que celui de l'adulte. Néanmoins, il ne faut pas chercher une corrélation entre la force antiprésurante du sérum de l'animal et la richesse en présure de l'estomac de cet animal. Ce serait une entreprise téméraire, étant données les conditions physiologiques si variables d'une espèce à l'autre, étant donnée l'impossibilité de mesurer la quantité de présure sécrétée.

*
* *

Les rapports étroits qui rattachent les diastases aux toxines se resserrent encore par la découverte des antidiastases.

Ainsi de même qu'une toxine injectée chez un animal à doses progressivement croissantes provoque la formation d'une antitoxine spécifique, de même les diastases injectées à des animaux provoquent la formation d'antidiastases correspondantes.

Kossel, puis Camus et Gley, par injections de sérum d'anguille, avaient déjà obtenu un sérum qui empêchait l'action dissolvante du sérum d'anguille sur les globules rouges. Morgenroth obtint le même résultat avec une diastase végétale, la crotine.

La découverte d'antiprésure dans les sérums normaux m'incita à provoquer la formation de cette antidiastase dans le sang des animaux par injection de présure.

J'ai choisi le lapin comme animal d'expérience, à cause de la faible teneur en antiprésure de son sérum normal.

La présure que j'injectais était de la présure Hansen liquide. Auparavant, on la dialysait pour la débarrasser de l'énorme quantité de sel marin qu'elle renferme et obtenir une liqueur physiologique, ne renfermant plus que 6 à 7 0/00 de sel marin. On la stérilisait par filtration à la bougie Chamberland. Ce traitement lui faisait perdre environ la moitié de sa force, ainsi que je m'en suis assuré à plusieurs reprises.

Les injections étaient faites sous la peau, soit dans les veines, soit dans la cavité péritonéale. A la suite de chaque injection, il y avait un état fébrile assez prononcé et amaigrissement. Quand l'animal avait repris son état normal et son poids, c'est-à-dire au bout de huit à dix jours, on renouvelait l'injec-

tion. Les injections sous-cutanées produisaient une réaction locale, un œdème assez volumineux, mais qui disparaissait en deux à trois jours.

Voici les résultats que m'ont fourni les essais de sérum après un nombre variable d'injections.

N° DU LAPIN	NOMBRE D'INJECTIONS	TEMPS de la SAIGNÉE après LA DERNIÈRE INJECTION	POUVOIR ANTIPRÉSURANT
Normal.	0 injection.	»	1/1200
1	2 injections.	4 jours.	1/1000
2	3 —	6 —	1/800
3	5 —	10 —	1/400
4	8 —	4 —	1/50
5 (albinos).	10 —	7 —	1/130
6	10 —	15 —	1/80
6	10 —	94 —	1/400

Il y a eu des variations assez considérables d'un individu à l'autre. Ainsi, les deux lapins 5 et 6 ont reçu les mêmes quantités de présure, et pourtant le pouvoir antiprésurant de l'albinos est devenu moins fort que celui de l'autre. C'est un fait de plus à ajouter à la série déjà longue des faits connus de la plus grande difficulté d'immunisation des albinos.

Je signalerai aussi à l'attention le lapin 6. Car on voit par les deux essais de sérum, faits à longue distance l'un de l'autre, que le pouvoir antiprésurant va en diminuant si on ne renouvelle pas les injections, mais cette diminution est assez lente.

Quelques mois après la publication sommaire de mes expériences, Morgenroth publiait le résultat des recherches qu'il avait entreprises sur l'immunisation de deux chèvres, et que son maître Ehrlich avait annoncées quelques mois auparavant. Son mode opératoire pour la détermination du pouvoir antiprésurant du sérum est différent du nôtre. Au lieu d'opérer à la température de 40°, il opère à basse température, à la glacière. Il cherche à déterminer la plus faible quantité de présure néces-

saire pour produire la coagulation, quand, après plusieurs heures d'action à basse température, on amène le lait à 33°-40°. Il opère ainsi pour se mettre à l'abri de l'objection chimérique d'une destruction partielle de la présure pendant son action sur le lait. J'ai fait comparativement des essais de sérum avec la méthode que j'ai indiquée et avec celle de Morgenroth, je suis arrivé aux mêmes nombres comme mesures des pouvoirs anti-présurants.

Les sérums des deux chèvres de Morgenroth, après traitement analogue, avaient des pouvoirs antiprésurants assez différents l'un de l'autre. Il y avait donc ici aussi des différences individuelles considérables au point de vue du degré d'immunisation.

Morgenroth put suivre jour par jour, pendant un certain temps, la marche de l'immunisation de l'une de ses chèvres, en examinant le lait de celle-ci.

En effet, on sa 't qu'Ehrlich et Brieger ont signalé le passage des antitoxines dans le lait de l'animal immunisé. Salomonsen et Madsen ont ensuite établi le parallélisme des courbes des teneurs en antitoxine du sérum et du lait d'une jument en cours d'immunisation contre la toxine diphtérique. Morgenroth a admis le même parallélisme pour la teneur en antiprésure du sérum et du lait de sa chèvre. Chaque jour, il déterminait la plus faible quantité de présure capable de coaguler 10 c. c. du lait de sa chèvre. Il a obtenu ainsi une courbe indiquant la marche de l'immunisation de l'animal. Cette courbe, par ses allures générales, rappelle celle de Salomonsen et Madsen pour la toxine diphtérique. Elle s'en distingue pourtant par un point essentiel.

A la suite d'une injection de toxine diphtérique, la teneur en antitoxine baisse beaucoup, pour se relever ensuite et atteindre un maximum plus élevé que la moyenne antérieure. Après une injection de présure, on n'observe pas cette chute rapide et prononcée de la teneur en antiprésure, mais au contraire une augmentation plus ou moins immédiate.

En résumé, on a une importante analogie de plus entre les diastases et les toxines. On peut dire qu'à une diastase correspond une antidiastase spécifique, comme à une toxine correspond une antitoxine spécifique. Le mode de production de l'antidias-

tase est absolument comparable à celui de la production de l'antitoxine : aux injections répétées d'une diastase, l'animal réagit par la production de l'antidiastase dans son sang. Le problème est différent de ce qu'il est pour les toxines, car un grand nombre de diastases, et la présure est de ce nombre, sont des produits normaux de l'organisme; et on peut supposer que la sécrétion interne de ces diastases détermine une véritable immunisation naturelle, qui explique la présence de l'antidiastase dans l'organisme normal.

IV

ACTION DE L'ANTIPRÉSURE SUR LA PRÉSURE

Dès la découverte des antitoxines, on émit des hypothèses variées sur la nature de l'action des antitoxines sur les toxines. Roux alors pensait que l'antitoxine agissait non pas sur la toxine, mais simplement comme stimulant des cellules de l'animal qui la reçoit. Les expériences de Vaillard sur la toxine et l'antitoxine tétaniques établissent qu'un mélange de toxine et de sérum, neutre pour une espèce animale, peut être toxique pour une autre. On était donc fondé à admettre qu'il n'y avait pas d'action en dehors de l'organisme de l'antitoxine sur la toxine.

Ehrlich, au contraire, suppose qu'il se produit entre la toxine et l'antitoxine une véritable combinaison chimique, comparable à celle d'un acide avec une base pour donner un sel neutre.

Puis survint la découverte des antidiastases, agissant en dehors d'un organisme pour empêcher l'action des diastases. Kanthack signalait que le sérum antivenimeux empêche l'action coagulante du venin. Ehrlich faisait produire aux animaux une antiricine empêchant l'action agglutinante de la ricine sur les hématies.

Stephens et Myers signalaient l'action antihémolytique du sérum antivenimeux; Camus et Gley obtenaient également un sérum qui empêchait l'action hémolytique du sérum d'anguille.

Mais toutes ces antidiastases empêchent l'action des diastases sur des cellules, globules rouges, corps microbiens, etc. Aussi pouvait-on dire à leur sujet ce que Roux disait des antitoxines, et attribuer leur action à une stimulation des éléments sur lesquels agissent les diastases. Cette objection n'était plus valable pour des antidiastases, telle que l'antitrypsine que Fermi et Pernossi ont mises en évidence. La trypsine agissant sur de la fibrine ou de l'albumine, on ne peut pas attribuer à une réaction vitale de ces substances l'action empêchante du sérum antitrypsique. De même, l'action du sérum antiprésurant ne peut être attribuée à une réaction de la caséine du lait.

On doit donc admettre une action directe de l'antitoxine sur la toxine, de l'antidiastase sur la diastase. Mais on n'a pu encore déterminer la véritable nature de cette action.

Les faits établis sont différents d'une toxine à l'autre.

Il est vrai de dire aussi que la plupart des expériences ont été faites dans des conditions mal définies, ou en négligeant certains facteurs très importants ainsi que nous verrons plus loin à propos de la présure et de l'antiprésure.

D'après l'hypothèse d'Ehrlich, s'il y a combinaison chimique entre la toxine et l'antitoxine, il doit y avoir proportionnalité constante entre ces quantités de toxine et d'antitoxine dans un mélange neutre.

D'un côté, cette proportionnalité a été établie par Ehrlich, Kossel et Wassermann pour la toxine diphtérique; par Fraser pour les venins de serpent. Wassermann arrive à la même loi de proportionnalité dans ses expériences sur l'abrine et l'antiabrine, sur la ricine et l'antiricine. Camus et Gley montraient également que le sérum antihémolytique obtenu spécifiquement contre le sérum d'anguille annihilait les effets de quantités de sérum d'anguille proportionnelles à son volume. Moi-même j'ai trouvé qu'il y avait proportionnalité entre la quantité de présure annihilée et la quantité d'antiprésure nécessaire à cet effet.

D'un autre côté Roux et Knorr n'observaient pas la proportionnalité pour la toxine tétanique. Bomstein et Cobbett n'y arrivent pas non plus avec la toxine diphtérique.

*
* *

Influence du temps de contact entre la présure et l'antiprésure. — On est donc en présence de faits opposés les uns aux autres. Y a-t-il proportionnalité, n'y a-t-il pas proportionnalité?

Les défenseurs de la théorie d'Ehrlich ont cherché à expliquer les faits qui ne cadraient pas avec leur hypothèse.

Si, dans certains cas, disaient-ils, le cas de la toxine tétanique par exemple, on n'avait pas observé la proportionnalité entre la quantité de toxine et la quantité de sérum nécessaires pour avoir un mélange neutre, c'est que l'union de la toxine et de l'antitoxine était une combinaison chimique qui ne se produisait pas instantanément, mais exigeait un certain temps pour être complète.

Comme pour un certain nombre de phénomènes chimiques, l'équilibre ne s'établirait qu'après un temps plus ou moins long.

Behring et Ransom reprirent les expériences avec la toxine tétanique, en éprouvant le mélange de toxine et d'antitoxine seulement après un certain temps de contact des deux substances. Dans ces conditions, il arrivèrent à la loi de proportionnalité.

Cobbett a fait des expériences analogues avec la toxine diphtérique. Un mélange de toxine et d'antitoxine injecté, immédiatement après être fait, à un cobaye le tuait en deux jours, tandis que la même quantité du même mélange, après quatre heures de contact à 36°, injectée à un cobaye de même poids ne donne qu'une nécrose locale sans tuer l'animal.

J'ai réalisé avec l'antiprésure des expériences qui établissent le même fait de la nécessité d'un certain temps de contact entre la présure et l'antiprésure pour avoir union complète.

A une série de tubes renfermant la même quantité de sérum de cheval, on ajoute des quantités croissantes de présure; on laisse les substances en contact, et de temps en temps on éprouve l'action des différents mélanges sur le lait. On constate que la force présurante de ces mélanges va en diminuant progressivement quand le temps de contact augmente. Cette diminution s'arrête bientôt, et on atteint un état d'équilibre au-dessous duquel on ne descend plus, même après un long temps de contact.

COMPOSITION DU MÉLANGE	Temps de contact entre sérum et présure.	QUANTITÉ essayée sur 10 ^{cc} DE LAIT	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ A 40°	PHÉNOMÈNE observé à l'ébullition APRÈS 2 H. D'ACTION
5 c. c. sérum. 8/30 c. c. présure.	0'. 17'. 1 h.	0 c. c. 5. — —	Coag. incomplet en 10'. Rien. —	Coag. complété. Coag. à l'ébullition. Rien.
5 c. c. sérum. 9/30 c. c. présure.	0'. 17'. 1 h.	0 c. c. 5. — —	Coag. en 5' un peu incomplet. Rien. —	Coag. complété. Coagulum. Rien.
5 c. c. sérum. 1/3 c. c. présure.	0'. 17'. 1 h. 2½ h.	0 c. c. 5. — — —	Coag. complet en 4'. Rien. — —	Coag. complet. — très léger. — —
5 c. c. sérum. 11/300 c. c. présure.	17'. 1 h. 24 h.	0 c. c. 5. — —	Rien. — —	Coagulum. Coag. en grumeaux fins. Coag. en grumeaux fins.
5 c. c. sérum. 13/300 c. c. présure.	17'. 1 h. 24 h.	0 c. c. 5. — —	Rien. — —	Coagulum. — —
5 c. c. sérum. 14/300 c. c. présure.	17'. 34'. 1 h. 24 h.	0 c. c. 5. — — —	Coag. incomplet en 26'. Rien. —	Coag. complété. Coagulum. —
5 c. c. sérum. 0 c. c. 5 présure.	17'. 34'. 1 h. 24 h.	0 c. c. 5. — — —	Coag. complet en 7'. — 15'. Coag. incomplet en 60'. Rien.	Coag. complété. Coagulum. —
5 c. c. sérum. 0 c. c. 6 présure.	17'. 38'. 62'. 2½ h.	0 c. c. 5. — — —	Coag. complet en 3'. — 8'. — 8'. Rien.	Coagulum. — —
5 c. c. sérum. 0 c. c. 7 présure.	17'. 38'. 62'. 24 h.	0 c. c. 5. — — —	Coag. complet en 3'. — 4'. — 5'. Coag. incomp. en 1 h. 30.	Coag. complété. — —
5 c. c. sérum. 0 c. c. 8 présure.	23'. 62'. 24 h.	0 c. c. 5. — —	Coag. complet en 3'. — 7½'. Coag. incomplet en 11'.	Coag. complété. — —
5 c. c. sérum. 0 c. c. 9 présure.	25'. 62'. 24 h.	0 c. c. 5. — —	Coag. complet en 2'. — 4'. — 5'.	— — —
5 c. c. sérum. 1 c. c. pré- sure.	25'. 62'. 24 h.	0 c. c. 5. — —	Coag. complet en 2'. — 3'. — 3'.	— — —

A ces expériences, on pouvait faire l'objection que la diminution progressive de la force des mélanges de présure et de sérum était due à l'oxydation progressive de la présure. On sait que la présure diluée dans l'eau distillée perd très vite sa force. Aussi j'ai fait des essais comparatifs des mélanges de présure et d'eau physiologique à la température ordinaire.

J'ai fait les mélanges suivants :

α	{	10 c. c. eau physiologique.
	{	6/30 c. c. présure.
β	{	10 c. c. eau physiologique.
	{	8/30 c. c. présure.
γ	{	10 c. c. eau physiologique.
	{	4/3 c. c. présure.
δ	{	10 c. c. eau physiologique.
	{	12/30 c. c. présure.
ε	{	10 c. c. eau physiologique.
	{	14/30 présure.

Et je les ai laissés pendant cinq heures en contact ; alors je les ai essayés sur 10 c. c. de lait.

0 c. c. 2 de α	coagulent	10 c. c. de lait	en 10 minutes.
0 c. c. 2 de β	—	—	8 min. 1/2.
0 c. c. 1 de γ	—	—	4 1/2 minutes.
0 c. c. 1 de δ	—	—	10 min. 1/2.
0 c. c. 1 de ε	—	—	9 min. 1/2.

La diminution de force de ces mélanges a été extrêmement faible et pourtant la dilution de la présure était deux fois plus grande que dans les mélanges de sérum et de présure. Aussi ne peut-on attribuer à cette même cause d'oxydation la diminution de force des mélanges de sérum et de présure, mais à une action assez lente de l'antiprésure sur la présure.

Cette action semble achevée à peu près au bout d'une heure, car les résultats obtenus par l'essai des mélanges après une heure ou après 24 heures de contact sont presque identiques.

La proportionnalité entre la quantité de diastase et la quantité d'antidiastase nécessaire pour la neutralisation des effets est donc une loi bien établie, lorsqu'on se place dans les mêmes conditions de milieu.

*
* *

Influence des sels sur le mélange d'une diastase et d'une anti-diastase. — Mais cette proportionnalité ainsi établie n'est pas une preuve que l'antitoxine se combine chimiquement à la toxine pour donner un corps inactif. Car le coefficient de proportionnalité n'est pas invariable avec les conditions du milieu, ainsi que nous le verrons plus loin.

Lorsqu'on veut mesurer la quantité de toxine restée libre dans un mélange de sérum et de toxine, on prend comme unité la dose minima mortelle de toxine (T), I étant l'unité d'antitoxine, L_0 indique la quantité de toxine neutralisée par (I) de telle sorte que le mélange (I) + L_0 est un mélange neutre. L_+ représente la quantité de toxine à ajouter à (I) pour avoir un mélange ayant une dose mortelle de toxine libre. Il semble que l'on devrait avoir, d'après la loi de proportionnalité :

$$L_+ - L_0 = 1 (T)$$

Or ce n'est pas ce que Ehrlich observe avec la toxine diphtérique. Il faut ajouter au mélange neutre beaucoup plus qu'une dose mortelle de toxine pour la rendre mortelle.

Ehrlich a voulu expliquer ce fait en supposant l'existence, dans la toxine, de substances dérivées de cette toxine, substances qui ne tuent plus, mais qui fixent encore l'antitoxine. Il les a appelées toxoïdes, toxones. Il a même cherché à distinguer plusieurs toxoïdes, les classant d'après leur degré d'affinité pour l'antitoxine. Mais, pour distinguer ces diverses substances, il n'emploie qu'un seul réactif, l'animal vivant, comme si, avec une seule équation, on pouvait déterminer plusieurs inconnues.

Du reste, l'injection d'une toxine seule ou l'injection d'un mélange de toxine et de sérum sont deux phénomènes qui ne sont pas comparables. On a changé le milieu, et, de ce fait, la dose mortelle a pu être modifiée. On n'a pas le droit de considérer, comme le fait Ehrlich, le poison diphtérique comme une solution de toxine spécifique dans un liquide indifférent, en faisant abstraction des corps associés tels que sels, extraits de viande, peptones, etc.

Les expériences de Charrin et Levaditi sur la variation de

la dose mortelle de toxine diphtérique montrent bien la prudence qu'il faut apporter dans l'étude de ces phénomènes. Dans leurs expériences, on ne peut invoquer l'existence de toxoïdes ou toxones pour expliquer ces variations. Ces deux savants ont déterminé la dose mortelle M de toxine diphtérique en solution isotonique de chlorure de sodium (0,93 0/0) et la dose mortelle M' en solution anisotonique à 10 0/0. Ils ont trouvé que $M = 5 M'$. Le fait d'ajouter du chlorure de sodium à la solution de toxine a eu pour effet d'en augmenter dans de très fortes proportions la toxicité.

Les expériences de Danysz sont aussi très instructives à cet égard. Elles ont montré l'influence qu'exercent des sels tels que les phosphates sur le mélange d'ammoniaque et d'acide sulfurique que Danysz compare à un mélange de diastase et d'anti-diastase, assimilant l'action hémolytique de l'ammoniaque à celle des hémolysines, et l'acide sulfurique qui neutralise l'ammoniaque au sérum antihémolytique.

Le coefficient de proportionnalité entre les doses d'ammoniaque et d'acide sulfurique nécessaires pour avoir un mélange sans action sur les globules rouges change avec la teneur en phosphate du milieu. Il change même sans adjonction de phosphate. C'est que le phénomène d'hémolyse par l'ammoniaque est un phénomène dû à la tonicité du milieu. L'adjonction d'acide sulfurique donne du sulfate d'ammonium dont la présence change la tonicité du milieu.

J'ai cherché, de mon côté, à déterminer l'action de certains sels sur le mélange de présure et d'antiprésure et j'ai constaté que l'on pouvait changer fortement la proportion d'antiprésure nécessaire à neutraliser la présure.

*
* *

Influence des chlorures de calcium et de magnésium sur le mélange de présure et d'antiprésure. — Le chlorure de calcium ajouté au lait jusqu'à des doses assez fortes est un sel accélérateur de la présure. Si on dépasse certaines doses, il devient au contraire retardateur.

En présence d'antiprésure, j'ai observé des phénomènes intéressants.

COMPOSITION DU MILIEU	QUANTITÉ DE PRÉSURE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ
10 c. c. lait.	1/100 c. c.	Coagulation en 6 minutes.
0 c. c. 5 CaCl ² 25 0/0.	3/500 —	— — 50 —
0 c. c. 5 sérum cheval.	2/500 —	Pas de coagulation.
10 c. c. lait.	1/50 c. c.	Coagulation en 6 minutes.
0 c. c. 5 CaCl ² 25 0/0.	6/500 —	— — 47 —
1 c. c. sérum cheval.	4/500 —	Pas de coagulation.
10 c. c. lait.	3/100 c. c.	Coagulation en 7 minutes.
0 c. c. 5 CaCl ² 25 0/0.	9/500 —	— — 50 —
1 c. c. 5 sérum cheval.	6/500 —	Pas de coagulation.
10 c. c. lait.	1/50 c. c.	Pas de coagulation.
0 c. c. 5 sérum cheval.	1/40 —	Coagulation en 8 minutes.

De ce tableau il ressort que, dans les mêmes conditions salines, c'est-à-dire avec la même dose de chlorure de calcium, il y a encore proportionnalité entre la quantité de sérum présent dans le lait et la quantité de présure annihilée par ce sérum. Des doses *a*, 2 *a*, 3 *a*, etc., de sérum annihilent encore des doses *b*, 2 *b*, 3 *b*, etc., de présure. Mais le rapport *a/b* qui est ce que j'appelle le coefficient de proportionnalité, se modifie avec les conditions salines du milieu.

Pour du lait ordinaire non additionné de sels, le coefficient est de 25 environ (0,5/0,002); pour du lait additionné de 5 0/0 de solution de chlorure de calcium à 25 0/0, il est devenu 125, c'est-à-dire 5 fois plus fort.

Dans une autre série d'expériences, ce coefficient était 50 environ pour du lait normal, 60 pour du lait additionné de 0,6 0/0 d'une solution de chlorure de calcium à 25 0/0, 75 pour du lait additionné de 2 0/0 de la même solution, 150 pour du lait additionné de 5 0/0 de cette solution.

Le chlorure de magnésium donne lieu à des phénomènes de même ordre.

On est tenté d'admettre une augmentation de force de la

présure, car les chlorures de calcium et de magnésium accélérant beaucoup par eux-mêmes l'action de cette diastase, on pouvait supposer qu'ils agissaient simplement sur le mélange de présure et d'antiprésure comme s'ils multipliaient l'action de la présure.

*
* *

Influence du chlorure de potassium et du phosphate disodique sur le mélange de présure et d'antiprésure. — Pour répondre à la précédente objection, j'ai eu recours à un autre sel, le chlorure de potassium qui, lui, à l'encontre du chlorure de calcium, est un sel retardateur de la coagulation par la présure.

Le tableau suivant résume très bien les résultats que j'ai obtenus avec ce sel :

COMPOSITION DU MÉLANGE	QUANTITÉ DE PRÉSURE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ
10 c. c. lait.	1/500 c. c.	Coagulation en 12 minutes.
	2/500 —	— — 9 —
	3/500 —	— — 6 —
10 c. c. lait. 1 c. c. KCl 10 0/0.	1/500 c. c.	Coagulation en 25 minutes.
	2/500 —	— — 16 —
	3/500 —	— — 10 —
10 c. c. lait. 0 c. c. 5 sérum cheval.	3/160 c. c.	Rien à 40°. Rien à l'ébullition.
	4/160 —	— — Coagulum à l'ébullition.
	5/160 —	— — — —
	6/160 —	Coagulum en 6 minutes.
10 c. c. lait. 0 c. c. 5 sérum cheval. 1 c. c. KCl 10 0/0.	3/600 c. c.	Rien à 40°. Rien à l'ébullition.
	4/600 —	— — Caillot à l'ébullition.
	2/160 —	— — — —
	3/160 —	Coagulum en 2 heures.
	4/160 —	— — 10 minutes.
	5/160 —	— — 7 —

Ainsi, le chlorure de potassium, sel retardateur de la présure, a sur le mélange de présure et d'antiprésure un effet semblable à celui du chlorure de calcium, sel accélérateur. Comme ce dernier, il modifie le coefficient de proportionnalité d'union de la présure et de l'antiprésure, et il le modifie très sensiblement au bénéfice de la présure.

On voit donc que deux sels qui agissent en sens inverse sur la coagulation du lait par la présure modifient au contraire dans le même sens l'action de l'antiprésure sur la présure. Donc il y a bien une action directe des sels sur le phénomène d'union de l'antiprésure sur la présure. Le coefficient de proportionnalité dépend donc du milieu salin.

Le phosphate disodique, ainsi que l'ont montré les expériences de Danysz, joue un rôle important dans le rapport de neutralisation de l'ammoniaque par l'acide sulfurique, neutralisation au point de vue hémolytique. J'ai cherché à voir si la présence de ce sel influençait l'action du sérum de cheval sur la présure.

Ce sel retarde d'une façon notable la coagulation du lait par la présure. Le retard doit être attribué en partie à l'alcalinité du sel, car le phosphate disodique est alcalin au tournesol. L'influence qu'il exerce sur le mélange de présure et d'antiprésure est peu marquée, quoique encore manifeste. Il augmente la quantité de présure annihilée par l'antiprésure.

Ces expériences sur l'action des sels sur le mélange de présure et d'antiprésure ne sont pas la preuve d'une union chimique entre la diastase et l'antidiastase. Elles n'en démontrent pas non plus l'impossibilité. On peut simplement en tirer la conclusion que, s'il y a combinaison, ce n'est pas une combinaison en proportions définies comme celles que l'on connaît en chimie.

Les modifications apportées au milieu par l'adjonction de sels changent le rapport d'union de la diastase et de l'antidiastase. Par augmentation progressive de la teneur du milieu en un sel déterminé, on constate un changement progressif de ce rapport. On ne trouve pas, comme pour les véritables combinaisons chimiques, un nombre limité de combinaisons. Mais à chaque milieu correspondrait une combinaison différente de la diastase et de l'antidiastase, un état d'équilibre différent.

*
* *

Action de l'antiprésure sur la présure dont l'action sur le lait a commence.— Il est encore un cas où le coefficient de proportionnalité de l'antitoxine à la toxine neutralisée est considérablement modifié ; c'est celui où, au lieu de faire le mélange de toxine et d'antitoxine *in vitro*, avant l'injection, on injecte séparément la toxine et l'antitoxine.

Ehrlich et Wassermann injectaient d'abord l'antitoxine diphtérique 36 heures avant la toxine. Pour éviter la mort de l'animal, la dose d'antitoxine devait être 5 fois plus forte que si l'on injectait le mélange fait avant l'injection ; et, pour ne pas avoir de réaction locale, la dose d'antitoxine devait être 14 fois plus forte.

Fraser a expérimenté avec le sérum antivenimeux et constaté que si on injecte le venin et le sérum en même temps, mais en des endroits différents du corps, il faut, pour sauver l'animal, environ 15 fois plus de sérum que pour neutraliser la même dose de venin *in vitro*.

Madsen a fait des expériences sur la tétanolysine et constaté que, pour empêcher la dissolution des globules rouges par cette diastase, la quantité de sérum antitétanique nécessaire augmentait avec la durée de contact de la toxine avec les globules rouges. Il a montré ainsi la possibilité d'enrayer par l'antidiastase l'action déjà commencée de la diastase ; mais la dose d'antidiastase nécessaire est d'autant plus forte que l'action de la diastase a été plus prolongée, tout comme si, par l'action, la diastase s'était multipliée.

J'ai fait des expériences analogues avec l'antiprésure et la présure.

Le tableau suivant montrera bien la marche d'une expérience. Dans chaque tube il y a 10 c. c. de lait.

QUANTITÉ DE PRÉSURE	QUANTITÉ DE SÉRUM	TEMPS ÉCOULÉ entre la mise de présure et la mise de sérum.	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ
0 c. c. 002	Rien.		Coagulation en 14 minutes.
0 — 002	0 c. c. 1	3 minutes.	Pas de coagulation.
0 — 002	0 — 1	6 —	—
0 — 002	0 — 1	7 —	—
0 — 002	0 — 1	9 —	Coagulation en 16 minutes.
0 — 002	0 — 1	11 —	— 14 —
0 c. c. 001	Rien.	»	Coagulation en 23 minutes.
0 — 001	0 c. c. 05	16 minutes.	Pas de coagulation.
0 — 001	0 — 05	18 —	Coagulation en 54 minutes.
0 — 001	0 — 1	18 —	Pas de coagulation.
0 — 001	0 — 1	20 —	Coagulation en 28 minutes.
0 — 001	0 — 2	20 —	Pas de coagulation.
0 — 001	0 — 4	22 —	Coagulation en 28 minutes.

Si l'on porte à l'ébullition le contenu des tubes qui n'ont pas coagulé, on obtient un précipité d'autant plus abondant que le contact de la présure avant l'adjonction du sérum a été plus prolongé. L'action de la présure a été interrompue par le sérum, et les précipités que donne l'ébullition sont de même importance que ceux que l'on obtient dans des tubes témoins, en portant le lait à l'ébullition après les mêmes temps de contact de la présure.

Ainsi donc, l'action commencée de la présure peut être arrêtée par le sérum. Mais il en faut des doses d'autant plus fortes que l'action a duré plus longtemps.

*
* *

Toutes ces expériences sur la présure et l'antiprésure montrent donc les étroites analogies de cette antidiastase avec les antitoxines.

Quant à vouloir en tirer une conclusion ferme sur la nature

de la liaison de la toxine et de l'antitoxine, nous ne le ferons pas. L'hypothèse d'une union chimique n'est guère faite pour séduire l'esprit. Il serait curieux de voir une combinaison chimique que rien jusqu'ici n'a pu dissocier. Toutes les tentatives faites pour séparer la toxine et l'antitoxine de leur mélange une fois fait sont restées infructueuses. La chaleur, la filtration, les précipitations n'ont rien donné.

De mon côté, j'ai cherché également à remettre en liberté la présure d'un mélange de sérum et de présure. Et à cet effet, j'ai utilisé le chlorure de calcium et le chlorure de potassium. On a vu par les expériences relatées plus haut que la présence de ces sels a pour effet d'augmenter dans de très fortes proportions la dose de sérum nécessaire pour annihiler une quantité donnée de présure. Si, dans un mélange de sérum et de présure, les deux substances persistent dans un certain état d'équilibre, l'adjonction de chlorure de calcium doit modifier cet équilibre et remettre la présure en liberté. Or, je n'ai rien constaté de semblable. Des mélanges de présure et d'antiprésure laissés en contact quelque temps sont devenus inactifs. L'adjonction de chlorure de calcium ne leur rend aucune activité. Il semble que la diastase ait été détruite par l'antidiastase.

Du reste, il est intéressant de noter les caractères de l'antiprésure et de son mode d'action.

Les caractères physiques et chimiques des antidiastases sont ceux des diastases : précipitation avec les albuminoïdes, non dialysabilité, destruction par la chaleur.

Le mode d'action de l'antiprésure rappelle celui des diastases en général : les sels influencent profondément l'antiprésure. L'action de l'antiprésure, active au début, va en s'affaiblissant très vite pour devenir très lente ainsi que mes expériences sur le temps de contact l'ont établi. C'est en général le mode d'action des diastases.

V

MODIFICATIONS APPORTÉES A L'ACTION DE LA PRÉSURE PAR LA COEXISTENCE D'UNE AUTRE DIASTASE

Lorsqu'on produit la coagulation du lait de vache par de la présure ordinaire de Hansen, on obtient un coagulum compact

qui laisse exsuder un sérum clair, jaunâtre, dans lequel l'adjonction de présure ne produit plus de précipitation. La coagulation est complète.

Le phénomène de la coagulation du sang se présente avec les mêmes caractères : caillot compact et sérum clair ne précipitant plus par adjonction de fibrin-ferment. Pourtant Phisalix a remarqué que le sang de vipère, recueilli par les carotides ou le cœur, reste liquide plusieurs heures avec formation d'un caillot plus ou moins abondant. Le liquide restant, renfermant les globules, est chauffé un quart d'heure à 58°. Il se prend en caillot compact, alors que le sérum ordinaire à cette température de 58° ne se coagule pas. Il restait de la fibrine dans le liquide surnageant. Il y avait eu coagulation partielle.

Avec le lait, j'ai obtenu par action de la présure dans des conditions variées des phénomènes de coagulation partielle.

*
* *

Coagulations partielles avec le sérum de cheval. — Lorsqu'on cherche à déterminer la force antiprésurante d'un sérum de cheval avec la présure liquide de Hansen, les phénomènes ne sont pas aussi simples que je les ai décrits ci-dessus à propos de l'antiprésure.

On prépare une série de tubes avec les mêmes doses de lait et de sérum de cheval. On les met au bain-marie à 40°. On les additionne de doses variables de présure. Dans tous les tubes qui reçoivent des doses de présure inférieures à une dose α , le lait ne coagule ni au bain-marie, ni à l'ébullition après deux heures de contact de la présure. Celle-ci a été entièrement annihilée par l'antiprésure.

Dans tous les tubes qui ont reçu une dose de présure supérieure à une dose β , on observe une coagulation plus ou moins rapide, et le coagulum laisse exsuder un sérum clair dans lequel l'adjonction de présure ne produit rien.

Dans les tubes qui ont reçu des doses de présure comprises entre les doses α et β , les phénomènes qui se passent ne sont plus aussi simples. Il intervient une troisième dose limite γ , comprise entre α et β qui sépare des phénomènes distincts.

Dans les tubes emprésurés avec des doses comprises entre α et

γ au bain-marie à 40°, on n'observe pas de coagulation. Mais l'ébullition y produit une coagulation instantanée.

Dans les tubes emprésurés avec des doses comprises entre γ et β , on a coagulation au bain marie à 40°, mais elle n'est pas complète. Le liquide surnageant le caillot n'est pas clair. L'addition de présure y produit un précipité floconneux s'agglomérant assez rapidement. L'ébullition y produit un coagulum instantané.

Le caillot primitivement formé est d'autant plus important, le liquide surnageant d'autant plus clair et le caillot supplémentaire formé par addition de présure d'autant plus faible que la dose de présure se rapproche davantage de la dose β .

Le tableau d'une de mes expériences montrera l'étendue de la zone α - β et l'importance du phénomène que nous signalons.

QUANTITÉ de LAIT	QUANTITÉ de SÉRUM	QUANTITÉ de PRÉSURE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ A 40°	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ à l'ébullition APRÈS 2 HEURES A 40°
10 c. c.	0 c. c. 5.	2/300 c. c.	Rien.	Rien.
		3/300 —	Rien.	Rien.
		4/300 —	Rien.	Caillot.
		8/300 —	Rien.	Caillot.
		9/300 —	Coag. très incomplet en 13 m.	Présure ou ébullition complète le coag.
		10/300 —	Coag. incomplet en 7 m.	—
		11/300 —	Coag. très peu incomplet en 6 m.	—
		12/300 —	Coag. complet en 5 m.	—
10 c. c.	0 c. c.	6/1500 c. c.	Rien.	Rien.
		7/1500 —	Rien.	Rien.
		8/1500 —	Rien.	Caillot.
		10/1500 —	Rien.	Caillot.
		11/1500 —	Coagulum très incomplet en 16 m.	Coag. complété par présure ou ébullition.
		12/1500 —	Coag. incomplet en 14 m.	—
		13/1500 —	Coag. complet en 10 m.	—

Le sérum de cheval dialysé donne lieu aux mêmes phénomènes de coagulation partielle du lait, et la zone α - β est de

même importance avec du sérum dialysé qu'avec du sérum non dialysé.

Ce n'est donc pas à des substances salines du sérum qu'il faut attribuer ces phénomènes de coagulation partielle, ainsi qu'on aurait pu être tenté de le faire par rapprochement avec ce que l'on a vu avec les citrates.

D'expériences que j'ai relatées plus haut, il résulte que la liaison de la présure et de l'antiprésure ne se fait pas instantanément, mais progressivement. On pouvait supposer que la présure mise dans le mélange de lait et de sérum n'était pas annihilée de suite, mais agissait pendant quelque temps sur le lait; cette action temporaire devait être d'autant plus importante que la dose de présure était plus forte. La caséine, à peine touchée par la présure, serait modifiée néanmoins, et rendue insoluble à l'ébullition. Si la modification est plus complète, la caséine ne peut plus rester tout entière en suspension et une partie coagule.

Cette explication du phénomène de coagulation partielle n'est pas admissible, car elle ne s'applique pas aux faits que j'ai observés avec des mélanges faits depuis 24 heures. L'union de la présure et de l'antiprésure est alors complète, et lorsqu'on aura une action sur le lait, c'est à la présure libre qu'il faudra l'attribuer. Or on n'observe pas toujours une coagulation complète.

On a préparé des tubes renfermant chacun 5 c. c. de sérum de cheval et des doses croissantes de présure. Après 24 heures de contact à la température ordinaire, on éprouve l'action de 0,5 c.c. de chacun de ces mélanges sur 10 c. c. de lait et on observe les faits relatés au tableau suivant :

Nos	NATURE DU MÉLANGE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ A 40°	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ à l'ébullition après 2 h. d'action du mélange sur le lait à 40°.
a	5 c. c. sérum. 8/30 c. c. présure.	Rien.	Rien.
b	5 c. c. sérum. 9/30 c. c. présure.	Rien.	Rien.
c	5 c. c. sérum. 1/3 c. c. présure.	Rien.	Caillot.
d	5 c. c. sérum. 1/2 c. c. présure.	Rien.	Caillot.
e	5 c. c. sérum. 0 c. c. 6 présure.	Rien.	Caillot.
f	5 c. c. sérum. 0 c. c. 7 présure.	Caillot incomplet en 59 minutes.	Caillot complété.
g	5 c. c. sérum. 0 c. c. 8 présure.	Caillot incomplet en 11 minutes.	Caillot complété.
h	5 c. c. sérum. 0 c. c. 9 présure.	Caillot complet en 5 minutes.	
i	5 c. c. sérum. 1 c. c. présure.	Caillot complet en 3 minutes.	

*
* *

Coagulation partielle avec un mélange de présure et de pepsine. —
L'explication vraisemblable de ces faits singuliers de coagulation partielle produits par le mélange de sérum et de présure apparaît quand on les rapproche d'autres faits non moins singuliers que j'ai observés, en employant pour la coagulation du lait une macération de muqueuse stomacale de porc.

Cette macération avait été préparée de la manière suivante : la muqueuse stomacale, desséchée dans le vide, coupée en morceaux, est immergée dans 10 fois son poids d'une solution

à 10 0/0 de sel marin, additionnée de 5 0/0 d'alcool. Après 10 mois de macération, on filtre et on essaie la liqueur sur le lait. Voici les résultats que j'ai obtenus :

QUANTITÉ DE LAIT	QUANTITÉ de macération N° 1	PHÉNOMÈNE A 40°	PHÉNOMÈNE à l'ébullition APRÈS 2 HEURES
10 c. c.	0 c. c. 3.	Coagulum complet en 2 1/2.	Coagulum complété.
—	0 c. c. 2.	— — 5'.	
—	0 c. c. 1.	— incomplet en 23'.	
—	0 c. c. 05.	Coagulum très incomplet en 48'.	
—	0 c. c. 03.	Rien.	
			Coagulum.

Avec une macération âgée également de 10 mois, mais dans laquelle je n'avais mis que des fragments de la partie non plissée de la muqueuse, j'ai obtenu des résultats analogues :

QUANTITÉ DE LAIT	QUANTITÉ de MACÉRATION	PHÉNOMÈNE A 40°	PHÉNOMÈNE à l'ébullition APRÈS 2 HEURES
10 c. c.	0 c. c. 5.	Coagulum complet en 2'.	Coagulum complété.
—	0 c. c. 4.	— 3'.	
—	0 c. c. 3.	Coag. un peu incomplet en 5'.	Coagulum.
—	0 c. c. 2.	Rien.	—
—	0 c. c. 1.	—	Coag. grumeleux.
—	0 c. c. 06.	—	Rien.
—	0 c. c. 03.	—	

On n'a plus les mêmes phénomènes qu'avec de la présure très active. Le liquide diastasifère qui, à la dose de 0,4 c. c. coagule 10 c. c. de lait en 3 minutes devrait les coaguler en 6 minutes à la dose de 0,2 c. c. d'après la loi de proportionnalité. Il n'en est rien. Cette dose ne les coagule plus du tout. Les macérations de muqueuses employées étaient neutres au tournesol et à la phé-

nolphtaléine, elles ne renfermaient pas d'autres sels en quantité notable que le chlorure de sodium que j'y avais introduit. Mais, vu leur origine, elles renfermaient de s quantités appréciables d'autres diastases, entre autres de la pepsine, ainsi que je m'en suis assuré en leur faisant digérer de la fibrine fraîche.

J'ai également observé des faits semblables en faisant agir sur le lait des solutions de pepsine. Cette dernière, vu son mode de préparation, doit renfermer une certaine quantité de présure, et effectivement j'ai observé la coagulation du lait par des doses suffisantes de solutions de pepsine.

QUANTITÉ de LAIT	QUANTITÉ de solution de PEPSINE	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ A 40°	PHÉNOMÈNE OBSERVÉ à l'ébullition APRÈS 2 HEURES
10 c. c.	1 c. c.	Coagulum complet en 7 m.	
—	0 c. c. 7.	Coagulum un peu incomplet en 8 m.	Coagulum complété.
—	0 c. c. 6.	Coagulum incomplet en 12 m.	— —
—	0 c. c. 5.	Coagulum très incomplet en 1 h. 30.	— —
—	0 c. c. 4.	Rien.	Coagulum.
—	0 c. c. 3.	Rien.	—
—	0 c. c. 2.	Rien.	Coagulum très incomplet.

Ainsi donc des macérations de muqueuse stomacale de porc, des solutions de pepsine donnent lieu par leur action sur le lait à des phénomènes de même nature que ceux que l'on observe avec le mélange de présure de veau et de sérum.

Les macérations de muqueuse stomacale, les solutions de pepsine et de présure sont des liqueurs renfermant plusieurs diastases. Peut-être est-ce à l'une d'entre elles qu'il faut attribuer les phénomènes singuliers que je viens de décrire ; peut-être est-ce la pepsine elle-même qui agirait ainsi. Cette diastase serait une diastase dissolvante, dont l'action serait antagoniste de celle de la présure, diastase coagulante. Et alors dans leur mélange il y aurait lutte entre les deux diastases. Suivant les proportions de cette diastase et de la présure, l'une ou l'autre l'emporterait. Si la présure est trop abondante, son action étant très rapide, on a coagulation. Si elle l'est moins,

comme dans les macérations de muqueuse de porc, l'action de la présure étant trop lente, la diastase décoagulante l'emportera plus ou moins et, suivant le cas, on aura coagulation partielle ou pas de coagulation du tout.

Cette diastase est à rapprocher de la *caséase* de M. Duclaux. La caséase se rencontre dans les bouillons de culture des tyrothrix ténus. Elle dissout, puis peptonise la caséine. Si la caséase est en assez grande quantité, la coagulation par la présure des tyrothrix ne se produit pas. Comme dans mes expériences, on a deux diastases antagonistes, et, suivant les cas, l'une ou l'autre prédomine.

Kühne avait également observé que l'extrait de pancréas coagulait le lait comme la présure. Mais il faut pour cela un extrait pancréatique très atténué, sinon on observe simplement la modification de la caséine en une substance soluble, coagulable à chaud, que Roberts appelle la métacaséine. N'est-ce pas là absolument le même phénomène que celui que j'ai observé avec les solutions de pepsine, que celui que M. Duclaux a signalé avec les bouillons de tyrothrix ?

CONCLUSIONS

Les recherches dont je viens d'exposer les détails m'ont conduit à des conclusions que j'ai déjà indiquées au cours de ce travail. Je les rappellerai en quelques mots.

I. Le phénomène de la coagulation du lait par la présure se dédouble en deux phénomènes successifs. Elle produit une transformation de la caséine de nature inconnue. Puis cette transformation est suivie de la coagulation proprement dite.

Cette coagulation est un phénomène d'ordre physique, intimement lié au phénomène parallèle de la précipitation du phosphate de chaux. C'est ce dernier sel qui donne au coagulum son caractère compact et rétractile.

En présence d'autres sels, tels que chlorure de sodium, la paracaséine précipite en fins grumeaux, non coalescents.

II. Il existe dans le sérum normal d'un grand nombre d'animaux une substance de nature diastasique dont l'effet est d'empêcher l'action de la présure sur la caséine. C'est une antidiastase que j'ai appelée *antiprésure*.

III. Par des injections répétées de présure faites à un animal, on provoque dans le sang de cet animal l'apparition de l'antiprésure ou l'augmentation de la quantité d'antiprésure qui s'y trouvait normalement.

IV. Cette antiprésure agit sur la présure comme les antitoxines agissent sur les toxines. De plus, j'ai constaté que cette action de l'antidiastase était modifiée par la teneur en sels du milieu; les uns, comme le phosphate disodique, la favorisent; les autres, comme le chlorure de calcium et le chlorure de potassium, la gênent. La loi de son action serait une loi hyperbolique, comme la loi de presque toutes les diastases.

V. L'action de la présure sur la caséine est gênée par d'autres diastases, telles que la caséase, la trypsine. Il existe une diastase analogue dans les macérations de muqueuse stomacale de porc, dans les solutions de pepsine, et aussi dans les solutions de présure de veau. Mais pour ces dernières, la diastase antagoniste de la présure n'est mise en évidence que grâce au sérum antiprésurant. Suivant la prédominance de cette diastase ou de la présure, on n'a pas de coagulation, ou l'on a coagulation partielle, ou coagulation complète.

BIBLIOGRAPHIE

- ARTHUS. *Éléments de Chimie physiologique*, 2^e édition. Paris, 1898.
- ARTHUS ET PAGÈS. *Archives de Physiologie*, t. II, 1890, p. 334 et 540.
- BEHRING ET RANSOM. *Deutsche Med. Wochenschrift*. 1898, p. 181.
- BOMSTEIN. *Centralbl. f. Bakt. u. Parasit.* 1898. Bd XXIII. Abth. I, p. 785.
- BRIOT. *C. R. Ac. des Sc.* 1899, 29 mai.
- CAMUS ET GLEY. *Archives de Physiologie*, t. IX. 1897, p. 764.
- CAMUS ET GLEY. *Semaine médicale*. 1898.
- CHARRIN ET LEVADITI. *C. R. Soc. Biol.* 1899.
- COBBETT. *Journal of Path. and Bacteriol.*, t. VI, p. 193.
- DANYSZ. *C. R. Soc. Biol.* 24 juin 1899.
- DANYSZ. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XIII, p. 581.
- DUCLAUX. *Traité de microbiologie*, t. II. Paris, 1889.
- DUCLAUX. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, 1893, t. II.
- DUCLAUX. *Le Lait*. Paris. 1894.
- EHRlich. *Klin. Jahresbericht*. 1897.
- EHRlich. *Deutsche Med. Wochenschrift*. 1898.
- EHRlich ET WASSERMANN. *Zeitschrift für Hygiene*. 1894. Bd. XVIII, p. 243.
- EHRlich ET BRIEGER. *Zeitschrift für Hygiene*. 1893. Bd. XIII.
- FERMI ET PERNOSSI. *Zeitsch. für Hygiene*. 1893. Bd. XIII.
- FRASER. *Nature*. London. 1896, t. LIII, p. 592.
- HAMMARSTEN. *Zeitsch. f. Physiol. Chemie*. 1899, t. VII.
- HAMMARSTEN. *Zeitsch. f. Physiol. Chemie*. 1883, t. XXVIII.
- HILLMANN. *Mittheilungen des Landwirth. Inst. des Univers. Leipzig*. 1897.
- KANTHACK ET COBBETT. *Centralbl. f. Bakt. u. Parasit.* 1898. Bd. XXIV, p. 129.
- KNORR. *Fortschr. der Med.* 1897. Bd. XV, p. 666.
- KOSSEL. *Berliner Klin. Wochenschrift*. 1898, p. 152.
- MADSEN. *Zeitschrift für Hygiene*, 1899, t. XXXII, p. 214.
- METCHNIKOFF. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1900.
- MORGENROTH. *Centralbl. f. Bakt. u. Parasit.* 1899. Bd. XXVI, p. 349.
- RODEN. *Upsala Lakareforenings Forhandlingar*. 1887. Bd. XXII.
- ROUX. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VIII, 1894.
- SALOMONSEN ET MADSEN. *Bulletin de l'Acad. roy. de Danemark*. 1896.
- STEPHENS ET MYERS. *Journ. of Path. and Bacteriol.* 1898, t. V, p. 279.
- VAUDIN. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VIII. 1894, p. 502 et 855.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

BOTANIQUE. — La greffe.

GÉOLOGIE. — Les terrains jurassiques de la chaîne du Jura,
leurs facies et leur rôle orographique.

Vu et approuvé :

Paris, le 23 mai 1900.

Le Doyen de la Faculté des sciences

G. DARBOUX.

Vu

et permis d'imprimer,

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris.

GRÉARD.

